

**T.C.  
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SİPROFLOKSASİN VE GENTAMİSİN ANTİBİYOTİKLERİ İÇİN SEÇİCİ  
ELEKTROTLARIN GELİŞTİRİLMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Muammer BURÇ**

**Kimya Anabilim Dalı**

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. Serap TİTRETİR DURAN**

**HAZİRAN 2020**

**T.C  
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SİPROFLOKSASİN VE GENTAMİSİN ANTİBİYOTİKLERİ İÇİN SEÇİCİ  
ELEKTROTLARIN GELİŞTİRİLMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Muammer BURÇ  
(36173613134)**

**Kimya Anabilim Dalı**

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. Serap TİTRETİR DURAN  
Eş Danışman: Arş. Grv. Dr. Öznur GÜNGÖR**

**HAZİRAN 2020**

## TEŞEKKÜR VE ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimine başladığım andan itibaren bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, her zaman desteğini hissettiğim ve kendisi ile çalışmaktan son derece mutlu olduğum değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Serap TİTRETİR DURAN'a,

Eğitimim süresince hoşgörü ve ilgisi ile her konuda bana yardım eden, moral ve motivasyon veren eş danışmanım Sayın Dr. Öznur GÜNGÖR'e,

Bilimsel katkılarını ve desteğini esirgemeyen, her zaman değerli fikirleri ile beni yönlendiren değerli hocam Sayın Prof. Dr. Süleyman KÖYTEPE'ye,

Birlikte yüksek lisans yaptığım, arkadaşlarım Nurcan AYHAN, Funda ALIŞIK ve İmren TAŞKIN' a ayrıca tüm hayatım boyunca olduğu gibi bu çalışmalarım süresince beni destekleyen, motivasyonumu artıran sevgili eşim ve çok kıymetli çocuklarım Hilal ve Yusuf Erdem'e,

Tezimi FYL-2018-1504 nolu proje ile maddi olarak destekleyen İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine;

Yüksek lisans eğitimimi yaptığım Kimya bölüm başkanlığına ve değerli hocalarına;

sonsuz teşekkür ederim.

Muammer BURÇ

## ONUR SÖZÜ

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum “Siprofloksasin ve Gentamisin Antibiyotikleri için Seçici Elektrotların Geliştirilmesi” başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığına ve yararlandığım bütün kaynakların hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.

Muammer BURÇ



## İÇİNDEKİLER

|                                                                            |           |
|----------------------------------------------------------------------------|-----------|
| TEŞEKKÜR VE ÖNSÖZ .....                                                    | iv        |
| ONUR SÖZÜ .....                                                            | v         |
| İÇİNDEKİLER.....                                                           | vi        |
| ÇİZELGELER DİZİNİ.....                                                     | ix        |
| ŞEKİLLER DİZİNİ.....                                                       | x         |
| SEMBOLLER VE KISALTMALAR.....                                              | xii       |
| ÖZET .....                                                                 | xiv       |
| ABSTRACT .....                                                             | xv        |
| <b>1. GİRİŞ.....</b>                                                       | <b>1</b>  |
| 1.1. Antibiyotiklerin Sınıflandırılması .....                              | 1         |
| 1.1.1. Etki güçlerine göre antibiyotikler.....                             | 2         |
| 1.1.1.1. Bakteriyostatikler .....                                          | 2         |
| 1.1.1.2. Bakterisidler .....                                               | 3         |
| 1.1.2. Etki mekanizmalarına göre antibiyotikler.....                       | 3         |
| 1.1.2.1. Bakteri hücre duvarının sentezini inhibe eden antibiyotikler..... | 3         |
| 1.1.2.2. Sitoplazma membran geçirgenliğini bozan antibiyotikler.....       | 4         |
| 1.1.2.3. Bakteri genetik materyali üzerine etki eden antibiyotikler.....   | 4         |
| 1.1.2.4. Ribozomlarda protein sentezini bozan antibiyotikler.....          | 4         |
| 1.1.2.5. Bakteriyel antimetabolitler .....                                 | 5         |
| 1.1.3. Kimyasal yapılarına göre antibiyotikler .....                       | 6         |
| 1.1.3.1. $\beta$ - laktamlar.....                                          | 6         |
| 1.1.3.2. Makrolidler .....                                                 | 9         |
| 1.1.3.3. Tetrasiklinler.....                                               | 9         |
| 1.1.3.4. Sülfonamidler .....                                               | 10        |
| 1.1.3.5. Glikopeptidler.....                                               | 10        |
| 1.1.3.6. Oksazolidinonlar.....                                             | 11        |
| 1.1.3.7. Kinolonlar.....                                                   | 11        |
| 1.1.3.8. Aminoglikozitler.....                                             | 13        |
| 1.2. Antibiyotik Direnci .....                                             | 15        |
| 1.3. Gıda Değeri Olan Hayvanlarda Antibiyotik Kullanılması .....           | 15        |
| 1.4. Literatür Özeti .....                                                 | 16        |
| 1.4.1. Siprofloksasin için literatürde yer alan tayin yöntemleri .....     | 16        |
| 1.4.2. Gentamisin için literatürde yer alan tayin yöntemleri.....          | 17        |
| 1.5. Amaç .....                                                            | 18        |
| <b>2. KURAMSAL TEMELLER.....</b>                                           | <b>19</b> |
| 2.1. Elektroanalitik Yöntemler .....                                       | 19        |
| 2.1.1. Voltametri.....                                                     | 19        |
| 2.1.2. Voltametrik teknikler .....                                         | 21        |
| 2.1.2.1. Dönüşümlü voltametri .....                                        | 21        |
| 2.1.2.2. Normal puls voltametrisi .....                                    | 23        |
| 2.1.2.3. Diferansiyel puls voltametrisi.....                               | 23        |
| 2.1.2.4. Kare dalga voltametrisi.....                                      | 24        |
| 2.1.2.5. Sıyırma analizi .....                                             | 26        |
| 2.1.3. Elektrokimyasal hücreler.....                                       | 26        |
| 2.1.4. Elektrokimyada kullanılan elektrotlar .....                         | 27        |
| 2.1.4.1. Referans elektrot.....                                            | 27        |
| 2.1.4.2. Çalışma elektrodu .....                                           | 28        |
| 2.1.4.3. Karşıt elektrot .....                                             | 30        |
| 2.1.5. Kimyasal olarak modifiye edilmiş elektrotlar .....                  | 30        |

|          |                                                                            |           |
|----------|----------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.1.6.   | Elektrokimyasal polimerizasyon yöntemi ile modifiye edilmiş elektrotlar    | 31        |
| 2.1.7.   | Kompozit materyaller ile modifiye edilmiş elektrotlar                      | 32        |
| 2.2.     | Analitik Yöntemlerin Validasyonu                                           | 33        |
| 2.2.1.   | Seçicilik/özgünlük                                                         | 33        |
| 2.2.2.   | Kesinlik/kararlılık                                                        | 33        |
| 2.2.3.   | Doğruluk                                                                   | 34        |
| 2.2.4.   | Doğrusallık                                                                | 35        |
| 2.2.5.   | Aralık                                                                     | 35        |
| 2.2.6.   | Tayin sınırı                                                               | 35        |
| 2.2.7.   | Kantitatif tayin sınırı                                                    | 36        |
| 3.       | <b>MATERYAL ve METOD</b>                                                   | <b>37</b> |
| 3.1.     | Kimyasal Maddeler                                                          | 37        |
| 3.2.     | Aygıt ve Gereçler                                                          | 37        |
| 3.3.     | Elektrotların Temizliği                                                    | 38        |
| 3.4.     | Kullanılan Tampon Çözeltilerinin Hazırlanması                              | 39        |
| 3.5.     | Kullanılan Stok Çözeltilerinin Hazırlanması                                | 39        |
| 3.6.     | Sentetik İdrar Çözeltilerinin Hazırlanması                                 | 40        |
| 4.       | <b>BULGULAR ve TARTIŞMA</b>                                                | <b>41</b> |
| 4.1.     | Siprofloksasin Sensörü Hazırlanması                                        | 41        |
| 4.1.1.   | SİP'in yükseltgenme/indirgenme potansiyelinin belirlenmesi                 | 41        |
| 4.1.2.   | Elektrot modifikasyonu                                                     | 42        |
| 4.1.2.1. | Monomer seçimi                                                             | 42        |
| 4.1.2.2. | Monomer konsantrasyonunun etkisi                                           | 43        |
| 4.1.2.3. | CV tarama hızının etkisi                                                   | 44        |
| 4.1.2.4. | Film kalınlığının etkisi                                                   | 45        |
| 4.1.3.   | Elektrokatalitik aktivite                                                  | 46        |
| 4.1.4.   | Empedans ölçümleri                                                         | 47        |
| 4.1.5.   | Destek Elektrolit Etkisi                                                   | 48        |
| 4.1.6.   | Destek elektrolitin pH etkisi                                              | 48        |
| 4.1.7.   | SWV analiz parametrelerinin etkisi                                         | 50        |
| 4.1.7.1. | Biriktirme potansiyelinin etkisi                                           | 50        |
| 4.1.7.2. | Sıyırma potansiyelinin etkisi                                              | 51        |
| 4.1.7.3. | Biriktirme süresinin etkisi                                                | 52        |
| 4.1.7.4. | Puls genliğinin etkisi                                                     | 53        |
| 4.1.8.   | Kalibrasyon grafiği                                                        | 54        |
| 4.1.9.   | Tekrarüretilebilirlik                                                      | 56        |
| 4.1.10.  | Sentetik idrarda siprofloksasin tayini                                     | 57        |
| 4.2.     | Gentamisin Sensörünün Hazırlanması                                         | 59        |
| 4.2.1.   | Gentamisinin yükseltgenme/indirgenme potansiyelinin belirlenmesi           | 59        |
| 4.2.2.   | Kullanılacak çalışma elektrotunun seçimi                                   | 60        |
| 4.2.3.   | Elektrot modifikasyonu                                                     | 60        |
| 4.2.3.1. | Monomer seçimi                                                             | 61        |
| 4.2.4.   | 3-Tiyofen karboksilik asit ko 3-metil tiyofen kullanarak gentamisin tayini | 62        |
| 4.2.4.1. | Monomer oranının etkisi                                                    | 62        |
| 4.2.4.2. | Monomer konsantrasyonunun etkisi                                           | 63        |
| 4.2.4.3. | Film kalınlığının etkisi                                                   | 64        |
| 4.2.4.4. | Tarama hızının etkisi                                                      | 65        |
| 4.2.5.   | Elektrokatalitik aktivite                                                  | 66        |
| 4.2.6.   | $p(3TCA \text{ ko } 3MTF)/GCE$ 'nin polimerleşme mekanizması               | 67        |
| 4.2.6.1. | <i>Poli(3TCA ko 3MTF)</i> film sentezi                                     | 68        |

|           |                                                                                |            |
|-----------|--------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 4.2.7.    | Empedans ölçümleri.....                                                        | 69         |
| 4.2.8.    | Destek elektrolit etkisi.....                                                  | 70         |
| 4.2.9.    | Destek elektrolitin pH etkisi.....                                             | 71         |
| 4.2.10.   | SWV analiz parametrelerinin etkisi.....                                        | 73         |
| 4.2.10.1. | Biriktirme potansiyelinin etkisi .....                                         | 73         |
| 4.2.10.2. | Sıyırma potansiyelinin etkisi .....                                            | 74         |
| 4.2.10.3. | Biriktirme süresinin etkisi .....                                              | 75         |
| 4.2.10.4. | Puls genliğinin etkisi .....                                                   | 76         |
| 4.2.11.   | Kalibrasyon grafiği.....                                                       | 77         |
| 4.2.12.   | Tekrarüretilebilirlik .....                                                    | 78         |
| 4.2.13.   | $p(3TCA \text{ ko } 3MTF)/GCE$ ile sentetik idrarda gentamisin tayini.....     | 79         |
| 4.3.      | pTSA dop Edilmiş $poli(\beta CD)$ Kullanarak GNS Tayini .....                  | 81         |
| 4.3.1.    | Elektrot modifikasyonu .....                                                   | 82         |
| 4.3.1.1.  | Monomer oranının etkisi .....                                                  | 82         |
| 4.3.1.2.  | Monomer konsantrasyonunun etkisi.....                                          | 83         |
| 4.3.1.3.  | Film kalınlığının etkisi.....                                                  | 84         |
| 4.3.1.4.  | Polimerleşme ortamı pH'sının etkisi .....                                      | 85         |
| 4.3.1.5.  | Tarama hızının etkisi .....                                                    | 86         |
| 4.3.2.    | Elektrokatalitik aktivite .....                                                | 86         |
| 4.3.3.    | pTSA dop edilmiş $p(\beta CD)/GCE$ 'nin polimerleşme mekanizması .....         | 87         |
| 4.3.4.    | Empedans ölçümleri.....                                                        | 88         |
| 4.3.5.    | Destek elektrolit etkisi.....                                                  | 89         |
| 4.3.6.    | Destek elektrolitin pH etkisi.....                                             | 90         |
| 4.3.7.    | SWV analiz parametrelerinin etkisi .....                                       | 92         |
| 4.3.7.1.  | Biriktirme potansiyelinin etkisi .....                                         | 92         |
| 4.3.7.2.  | Sıyırma potansiyelinin etkisi .....                                            | 93         |
| 4.3.7.3.  | Biriktirme süresinin etkisi .....                                              | 94         |
| 4.3.7.4.  | Puls genliğinin etkisi .....                                                   | 95         |
| 4.3.8.    | Kalibrasyon grafiği.....                                                       | 96         |
| 4.3.9.    | Tekrarüretilebilirlik .....                                                    | 97         |
| 4.3.10.   | pTSA dop edilmiş $p(\beta CD)/GCE$ ile sentetik idrarda gentamisin tayini .... | 99         |
| <b>5.</b> | <b>SONUÇ ve ÖNERİLER.....</b>                                                  | <b>101</b> |
|           | <b>KAYNAKLAR.....</b>                                                          | <b>107</b> |
|           | <b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>                                                          | <b>113</b> |

## ÇİZELGELER DİZİNİ

|                                                                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Çizelge 4-1: GCE ve $p(2TM)/GCE$ 'nin elektrokatalitik aktivitesine ait pik akımları .....                        | 46  |
| Çizelge 4-2: SİP % Geri kazanım verimi. ....                                                                      | 59  |
| Çizelge 4-3: GCE ve $p(3TCA \text{ ko } 3MTF)/GCE$ 'nin elektrokatalitik aktivitesine ait pik akımları.....       | 66  |
| Çizelge 4-4: GNS % Geri kazanım verimi .....                                                                      | 81  |
| Çizelge 4-5: GCE ve $pTSA$ dop edilmiş $p(\beta CD)/GCE$ 'nin elektrokatalitik aktivitesine ait pik akımları..... | 87  |
| Çizelge 4-6: GNS % Geri kazanım verimi .....                                                                      | 100 |
| Çizelge 5-1: SİP için geliştirilen yöntemin literatür karşılaştırılması. ....                                     | 103 |
| Çizelge 5-2: GNS için geliştirilen yöntemlerin literatür karşılaştırılması. ....                                  | 105 |
| Çizelge 5-3: Geliştirilen yöntemlere ait optimum parametreler. ....                                               | 106 |





## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                                                                                               |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1.1: Antibiyotiklerin sınıflandırılması.....                                            | 2  |
| Şekil 1.2: $\beta$ -laktam halkası.....                                                       | 6  |
| Şekil 1.3: Penisilin yapısı.....                                                              | 7  |
| Şekil 1.4: Sefalosporin yapısı.....                                                           | 8  |
| Şekil 1.5: Monobaktam yapısı.....                                                             | 8  |
| Şekil 1.6: Karbapenem yapısı.....                                                             | 9  |
| Şekil 1.7: Siprofloksasinin yapısı.....                                                       | 12 |
| Şekil 1.8: Gentamisin sülfatın yapısı.....                                                    | 14 |
| Şekil 2.1: Elektroanalitik tekniklerin sınıflandırılması.....                                 | 19 |
| Şekil 2.2: Üç elektrotlu hücre.....                                                           | 20 |
| Şekil 2.3: CV' de potansiyel-zaman uyarı sinyali.....                                         | 21 |
| Şekil 2.4: CV voltamogramı.....                                                               | 22 |
| Şekil 2.5: NPV' de potansiyel dalga formu ve akım-potansiyel eğrisi . ....                    | 23 |
| Şekil 2.6: Diferansiyel puls voltametrisinde potansiyel dalga formu .....                     | 24 |
| Şekil 2.7: DPV voltamogramı .....                                                             | 24 |
| Şekil 2.8: Kare dalga voltametrisinde potansiyel dalga formu .....                            | 25 |
| Şekil 2.9: Tersinir elektron transferi için kare dalga voltamogramı.....                      | 25 |
| Şekil 2.10: Referans elektrotlar (a) DKE, (b) Ag/AgCl, (c) SHE.....                           | 27 |
| Şekil 3.1: Ivium Vertex One potansiyostat.....                                                | 37 |
| Şekil 3.2: Elektrokimyasal hücre ve Cell stand.....                                           | 38 |
| Şekil 4.1: SİP'e ait CV (A), SWV (B) voltamogramları.....                                     | 41 |
| Şekil 4.2: SİP için monomer seçimi.....                                                       | 42 |
| Şekil 4.3: 2TM'nin polimerleşme voltamogramı 1.....                                           | 43 |
| Şekil 4.4: 2TM monomer konsantrasyonunun SİP SWV pik akımına etkisi.....                      | 44 |
| Şekil 4.5: CV Tarama hızının SİP SWV pik akımına etkisi.....                                  | 45 |
| Şekil 4.6: Film kalınlığının SİP SWV pik akımına etkisi.....                                  | 46 |
| Şekil 4.7: $p(2TM)/GCE$ elektrokatalitik aktivitesi.....                                      | 47 |
| Şekil 4.8: GCE ve $p(2TM)/GCE$ empedans ölçümleri.....                                        | 47 |
| Şekil 4.9: Elektrolit türünün SİP SWV pik akımına etkisi.....                                 | 48 |
| Şekil 4.10: SİP SW voltamogramı (A), pH-potansiyel grafiği (B).....                           | 49 |
| Şekil 4.11: SİP yükseltgenme mekanizması.....                                                 | 49 |
| Şekil 4.12: pH-SİP SWV pik akımı ilişkisi.....                                                | 50 |
| Şekil 4.13: Biriktirme potansiyelinin SİP SWSV pik akımına etkisi.....                        | 51 |
| Şekil 4.14: Sıyırma potansiyelinin SİP SWSV pik akımına etkisi.....                           | 52 |
| Şekil 4.15: Biriktirme süresinin SİP SWSV pik akımına etkisi.....                             | 53 |
| Şekil 4.16: Puls genliğinin SİP SWSV pik akımına etkisi.....                                  | 54 |
| Şekil 4.17: 0.1-200 $\mu M$ konsantrasyon aralığında SİP voltamogramları.....                 | 55 |
| Şekil 4.18: SİP'in 0.1-3 ve 10-200 $\mu M$ konsantrasyon aralığında kalibrasyon eğrileri..... | 56 |
| Şekil 4.19: $p(2TM)/GCE$ 'nin tekrarüretilebilirliği.....                                     | 57 |
| Şekil 4.20: Sentetik idrarda SİP tayini.....                                                  | 58 |
| Şekil 4.21: GNS yükseltgenme potansiyeli.....                                                 | 60 |
| Şekil 4.22: GNS tayini için elektrot seçimi.....                                              | 60 |
| Şekil 4.23: GNS için monomer seçimi.....                                                      | 61 |
| Şekil 4.24: 3TCA ko 3MTF polimerleşme voltamogramı.....                                       | 62 |
| Şekil 4.25: 3TCA:3MTF monomer oranının GNS SVW pik akımına etkisi.....                        | 63 |
| Şekil 4.26: 3TCA:3MTF monomer konsantrasyonunun GNS SVW pik akımına etkisi.....               | 64 |
| Şekil 4.27: Film kalınlığının GNS SWV pik akımına etkisi.....                                 | 65 |
| Şekil 4.28: CV tarama hızının GNS SWV pik akımına etkisi.....                                 | 66 |

|                                                                                      |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Şekil 4.29: $p(3TCA \text{ ko } 3MTF)/GCE$ ' nin elektrokatalitik aktivitesi.....    | 67  |
| Şekil 4.30: Politiyofenin elektropolimerik sentez mekanizması. ....                  | 68  |
| Şekil 4.31: $p(3TCA \text{ ko } 3MTF)$ sentez şeması. ....                           | 68  |
| Şekil 4.32: $Poli(3TCA \text{ ko } 3MTF)$ elektropolimerizasyon mekanizması. ....    | 69  |
| Şekil 4.33: GCE ve $p(3TCA \text{ ko } 3MTF)/GCE$ empedans ölçümleri.....            | 70  |
| Şekil 4.34: Elektrolit türünün GNS SWV pik akımına etkisi.....                       | 71  |
| Şekil 4.35: GNS SW voltamogramı (A), pH-potansiyel grafiği (B). ....                 | 72  |
| Şekil 4.36: pH-GNS SWV pik akımı ilişkisi.....                                       | 73  |
| Şekil 4.37: Biriktirme potansiyelinin GNS SWSV pik akımına etkisi.....               | 74  |
| Şekil 4.38: Sıyırma potansiyelinin GNS SWSV pik akımına etkisi.....                  | 75  |
| Şekil 4.39: Biriktirme süresinin GNS SWSV pik akımına etkisi. ....                   | 76  |
| Şekil 4.40: Puls genliğinin GNS SWSV pik akımına etkisi. ....                        | 77  |
| Şekil 4.41: 0.05-4.00 mM konsantrasyon aralığında GNS SWSV voltamogramları.....      | 78  |
| Şekil 4.42: GNS' nin 0.05-4.00 mM konsantrasyon aralığında kalibrasyon eğrisi.....   | 78  |
| Şekil 4.43: $p(3TCA \text{ ko } 3MTF)/GCE$ ' nin tekrarüretilebilirliği.....         | 79  |
| Şekil 4.44: $p(3TCA \text{ ko } 3MTF)/GCE$ ile sentetik idrarda GNS tayini. ....     | 80  |
| Şekil 4.45: $\beta CD$ ve pTSA polimerleşme voltamogramı.....                        | 81  |
| Şekil 4.46: $\beta CD:pTSA$ monomer oranının GNS SWV pik akımına etkisi. ....        | 82  |
| Şekil 4.47: Monomer konsantrasyonunun GNS SWV pik akımına etkisi. ....               | 83  |
| Şekil 4.48: Film kalınlığının GNS SWV pik akımına etkisi. ....                       | 84  |
| Şekil 4.49: Polimerleşme ortamının pH'sının GNS SWV pik akımına etkisi.....          | 85  |
| Şekil 4.50: Tarama hızının GNS SWV pik akımına etkisi. ....                          | 86  |
| Şekil 4.51: pTSA dop edilmiş $p(\beta CD)/GCE$ 'nin elektrokatalitik aktivitesi..... | 87  |
| Şekil 4.52: $\beta CD$ elektropolimerizasyon mekanizması. ....                       | 88  |
| Şekil 4.53: GCE ve pTSA dop edilmiş $p(\beta CD)/GCE$ empedans ölçümleri.....        | 89  |
| Şekil 4.54: Destek elektrolit türünün GNS' nin SWV pik akımına etkisi.....           | 90  |
| Şekil 4.55: GNS SW voltamogramı (A), pH-potansiyel grafiği (B). ....                 | 91  |
| Şekil 4.56: Destek elektrolit pH'sının GNS SWV pik akımına etkisi.....               | 92  |
| Şekil 4.57 Biriktirme potansiyelinin GNS SWSV pik akımına etkisi.....                | 93  |
| Şekil 4.58: Sıyırma potansiyelinin GNS SWSV pik akımına etkisi.....                  | 94  |
| Şekil 4.59: Biriktirme süresinin GNS SWSV pik akımına etkisi.....                    | 95  |
| Şekil 4.60: Puls genliğinin GNS SWSV pik akımına etkisi. ....                        | 96  |
| Şekil 4.61: 0.06 -3.50 mM konsantrasyon aralığında GNS SWSV voltamogramları.....     | 97  |
| Şekil 4.62: GNS' nin 0.06-3.50 mM konsantrasyon aralığında kalibrasyon eğrisi.....   | 97  |
| Şekil 4.63: pTSA dop edilmiş $p(\beta CD)/GCE$ 'nin tekrarüretilebilirliği.....      | 98  |
| Şekil 4.64: pTSA dop edilmiş $p(\beta CD)/GCE$ ile sentetik idrarda GNS tayini. .... | 100 |

## SEMBOLLER VE KISALTMALAR

|                        |                                                  |
|------------------------|--------------------------------------------------|
| <b>2TM</b>             | : 2 Tiyofen metanol                              |
| <b>2-5DMF</b>          | : 2-5 Dimetil furan                              |
| <b>3TCA</b>            | : 3-Tiyofen karboksilik asit                     |
| <b>3MTF</b>            | : 3-Metiltiyofen                                 |
| <b>3VFBA</b>           | : 3-Vinil fenil boronik asit                     |
| <b>4VBeA</b>           | : 4- Vinil benzoik asit                          |
| <b>4VP</b>             | : 4-Vinilpiridin                                 |
| <b>%R</b>              | : % geri kazanım verimi                          |
| <b>AcN</b>             | : Asetonitril                                    |
| <b>AE</b>              | : Yardımcı elektrot                              |
| <b>AkrA</b>            | : Akrilik asit                                   |
| <b>AlipA</b>           | : Alfa lipoik asit                               |
| <b>Ani</b>             | : Anilin                                         |
| <b>AsT</b>             | : Asetat tampon çözeltisi                        |
| <b>ASV</b>             | : Anodik Sıyırma Voltametrisi                    |
| <b>AuE</b>             | : Altın çalışma elektrodu                        |
| <b>BDD</b>             | : Bor Katkılı Elmas Elektrot                     |
| <b>B-RT</b>            | : Britton-Robinson tampon çözeltisi              |
| <b>CP</b>              | : Sabit faz elemanı                              |
| <b>CPE</b>             | : Karbon pasta elektrot                          |
| <b>CV</b>              | : Dönüşümlü voltametri                           |
| <b>DKE</b>             | : Doygun Kalomel Elektrot                        |
| <b>DNA</b>             | : Deoksiribo Nükleik asit                        |
| <b>DPV</b>             | : Diferansiyel Puls Voltametrisi                 |
| <b>EIS</b>             | : Elektrokimyasal empedans                       |
| <b>E<sub>s</sub></b>   | : Adım yüksekliği                                |
| <b>ECP</b>             | : Elektrokimyasal polimerizasyon                 |
| <b>f</b>               | : Frekans                                        |
| <b>FDA</b>             | : Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi                  |
| <b>FT</b>              | : Fosfat tampon çözeltisi                        |
| <b>GCE</b>             | : Camsı Karbon Elektrot                          |
| <b>GE</b>              | : Grafen elektrot                                |
| <b>GNS</b>             | : Gentamisin sülfat                              |
| <b>HPLC</b>            | : Yüksek performanslı sıvı kromatografi          |
| <b>IUPAC</b>           | : Uluslararası temel ve uygulamalı kimya birliği |
| <b>i<sub>f</sub></b>   | : İleri yöndeki akım                             |
| <b>i<sub>r</sub></b>   | : Geri yöndeki akım                              |
| <b>i<sub>net</sub></b> | : Net akım                                       |
| <b>KafA</b>            | : Kafeik asit                                    |
| <b>KgeA</b>            | : Klorogenik asit                                |
| <b>KCl</b>             | : Potasyum klorür                                |
| <b>LC</b>              | : Sıvı kromatografi                              |
| <b>LOD</b>             | : Tayin sınırı                                   |
| <b>LOQ</b>             | : Kantitasyon tayin sınırı                       |
| <b>LC/MS</b>           | : Sıvı kromatografi-kütle spektrometresi         |
| <b>MBK</b>             | : Minimum bakterisid konsantrasyonu              |
| <b>MİK</b>             | : Minimum inhibitör konsantrasyonu               |
| <b>MİP</b>             | : Moleküler baskılı polimer                      |
| <b>MKL</b>             | : Maksimum Kalıntı Limiti                        |

|                        |                                                                        |
|------------------------|------------------------------------------------------------------------|
| <b>mRNA</b>            | : Mesenger RNA                                                         |
| <b>MWCNT</b>           | : Çok duvarlı karbon nanotüp                                           |
| <b>NPV</b>             | : Normal puls voltametrisi                                             |
| <b>PABA</b>            | : para-aminobenzoik asit                                               |
| <b>PBP</b>             | : penisilin bağlayıcı protein                                          |
| <b>PBST</b>            | : Fosfat tamponlu tuz çözeltisi                                        |
| <b>PtE</b>             | : Platin çalışma elektrodu                                             |
| <b>pTSA</b>            | : Para toluen sülfonik asit                                            |
| <b>Q<sub>B</sub></b>   | : Sertifikalı referans materyallerin çalışması sonucunda bulunan değer |
| <b>Q<sub>CRM</sub></b> | : Sertifikalı referans madde değeri                                    |
| <b>Q<sub>o</sub></b>   | : Orjinal örnek sonucu                                                 |
| <b>Q<sub>Z</sub></b>   | : Zenginleştirilmiş örnek sonucu                                       |
| <b>Q<sub>ZK</sub></b>  | : Zenginleştirme konsantrasyonu                                        |
| <b>R<sup>2</sup></b>   | : Korelasyon katsayısı                                                 |
| <b>R<sub>ct</sub></b>  | : Yük transfer direnci                                                 |
| <b>RE</b>              | : Referans elektrodu                                                   |
| <b>RNA</b>             | : Ribo Nükleik asit                                                    |
| <b>rRNA</b>            | : Ribozomal RNA                                                        |
| <b>R<sub>s</sub></b>   | : Çözelti direnci                                                      |
| <b>RSD</b>             | : Relatif standart sapma                                               |
| <b>SHE</b>             | : Standart Hidrojen Elektrot                                           |
| <b>SİP</b>             | : Sipprofloksasin                                                      |
| <b>SitA</b>            | : Sitrik asit                                                          |
| <b>SitT</b>            | : Sitrat tampon çözeltisi                                              |
| <b>Sit-FT</b>          | : Sitrat - fosfat (Mcilvaine) tampon çözeltisi                         |
| <b>SPE</b>             | : Yüzey baskılı elektrot                                               |
| <b>SWV</b>             | : Kare dalga voltametrisi                                              |
| <b>SWSV</b>            | : Kare dalga sıyırma voltametrisi                                      |
| <b>Tandem MS</b>       | : Tandem Kütle Spektrometresi                                          |
| <b>Th</b>              | : Tiyofen                                                              |
| <b>TrfA</b>            | : Tereftalik asit                                                      |
| <b>TrsT</b>            | : Tris tampon çözeltisi                                                |
| <b>tRNA</b>            | : Taşıyıcı RNA                                                         |
| <b>W</b>               | : Warburg direnci                                                      |
| <b>WE</b>              | : Çalışma elektrodu                                                    |
| <b>WHO</b>             | : Dünya Sağlık Örgütü                                                  |
| <b>βCD</b>             | : Beta siklodekstrin                                                   |

## ÖZET

Yüksel Lisans Tezi

### SİPROFLOKSASİN VE GENTAMİSİN ANTİBİYOTİKLERİ İÇİN SEÇİCİ ELEKTROTLARIN GELİŞTİRİLMESİ

Muammer BURÇ

İnönü Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Kimya Anabilim Dalı

114+XV sayfa

2020

Danışman: Doç. Dr. Serap TİTRETİR DURAN  
Eş Danışman: Arş. Grv. Dr. Öznur GÜNGÖR

Antibiyotikler, bakteriyel enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde kullanılan, insan ve hayvan sağlığı açısından çok büyük öneme sahip biyolojik kaynaklı ya da sentetik olarak elde edilen ilaçlardır. İnsanlar tarafından antibakteriyel ajanların yanlış kullanımı; hayvanlarda hastalıkların tedavisi ve önlenmesi dışında, gelişiminin hızlandırılması, verimin artırılması, gıda kalitesinin iyileştirilmesi amacıyla kullanılması, antibiyotiğe dirençli bakteri suşlarının artmasına yol açmıştır. Biyolojik sıvılarda, dokularda, et, süt ve bal gibi besin maddelerinde antibiyotik kalıntılarının kontrolü son derece önem arz etmektedir. Bu nedenle kalıntı antibiyotik düzeyinin kolayca saptanabileceği, hızlı, duyarlı, ucuz ve basit tayin yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Tez kapsamında, Siprofloksasin ve Gentamisin tayinine yönelik basit, hızlı, düşük maliyetli voltametrik sensörler geliştirilmiştir. Bu kapsamda dönüşümlü voltametri metodu kullanılarak camı karbon elektrot modifiye edilmiştir. Siprofloksasin ve Gentamisin antibiyotiklerinin elektrokimyasal davranışları kare dalga sıyırma voltametri metoduyla incelenmiştir. Tez kapsamında Siprofloksasin için bir, Gentamisin için iki farklı yöntem geliştirilmiştir. Siprofloksasin tayini 2-Tiyofen metanol ile modifiye edilmiş camı karbon elektrot kullanılarak 0.1-200  $\mu\text{M}$  lineer aralıkta, 7 nM tayin sınırı ile gerçekleştirilmiştir. İlk yöntemde Gentamisin tayini, 0.05-4.00 mM doğrusal aralığında 0.039 mM saptama sınırı ile 3-metil tiyofen ve 3-tiyofen karboksilik asidin bir kombinasyonu kullanılarak modifiye edilmiş camı karbon elektrot kullanılarak gerçekleştirildi. İkinci yöntemde; Gentamisin tayini,  $\beta$ -siklodekstrin ve p-toluen sülfonik asit kombinasyonu ile 0.06-3.50 mM doğrusal aralığında 0.048 mM'lik bir sınır ile modifiye edilmiş camı karbon elektrot kullanılarak gerçekleştirildi. Geliştirilen yöntemlerin analitik uygulamaları sentetik idrarda yapılmış ve geri kazanım verimleri hesaplanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Siprofloksasin, Gentamisin, voltametri, sensör, 2-tiyofen metanol, 3-tiyofen karboksilik asit, 3-metil tiyofen,  $\beta$ -siklodekstrin, p-toluen sülfonik asit.

## ABSTRACT

Master Thesis

### DEVELOPMENT of SELECTIVE ELECTRODES for CIPROFLOXACIN and GENTAMICIN ANTIBIOTICS.

Muammer BURÇ

Inonu University  
Graduate School of Nature and Applied Sciences  
Department of Chemistry  
114+XV page

2020

Supervisor: Assoc. Dr. Serap TİTRETİR DURAN  
Cosupervisor: Res. Asst. Dr. Öznur GÜNGÖR

Antibiotics are biological sourced or synthetically obtained drugs that are of great importance for human and animal health, used in the treatment of bacterial infectious diseases. However, their effect strength is decreasing due to the bacterial resistance that becomes widespread day by day. Misuse of antibacterial agents by humans; apart from the treatment and prevention of diseases in animals, its use for accelerating its development, increasing the yield, improving food quality has led to an increase in antibiotic resistant bacteria strains. Control of antibiotic residues in biological fluids, tissues, nutrients such as meat, milk and honey is extremely important. For this reason, fast, sensitive, cheap and simple determination methods are needed in which the residual antibiotic level can be easily determined. In the scope of the thesis, simple, fast, low cost voltammetric sensors have been developed for the determination of Ciprofloxacin and Gentamicin. In this context, the glassy carbon electrode was modified using the cyclic voltammetry method. Electrochemical behavior of Ciprofloxacin and Gentamicin antibiotics were investigated by square wave stripping voltammetry method. Within the scope of the thesis, one method for Ciprofloxacin and two different methods for Gentamicin have been developed. Determination of Ciprofloxacin by using glassy carbon electrode modified with 2-Thiophene methanol; It was performed in the 0.1-200  $\mu\text{M}$  linear range, with the 7 nM detection limit. In the first method, Gentamicin determination was carried out by using glassy carbon electrode modified using a combination of 3-methyl thiophene and 3-thiophene carboxylic acid by detection limit 0.039 mM in the linear range of 0.05-4.00 mM. In the second method; determination of Gentamicin was carried out using glassy carbon electrode modified with the combination of  $\beta$ -cyclodextrin and p-toluene sulfonic acid by a limit of 0.048 mM in the linear range of 0.06-3.50 mM. Analytical applications of the developed methods were made in synthetic urine and their recovery efficiencies were calculated.

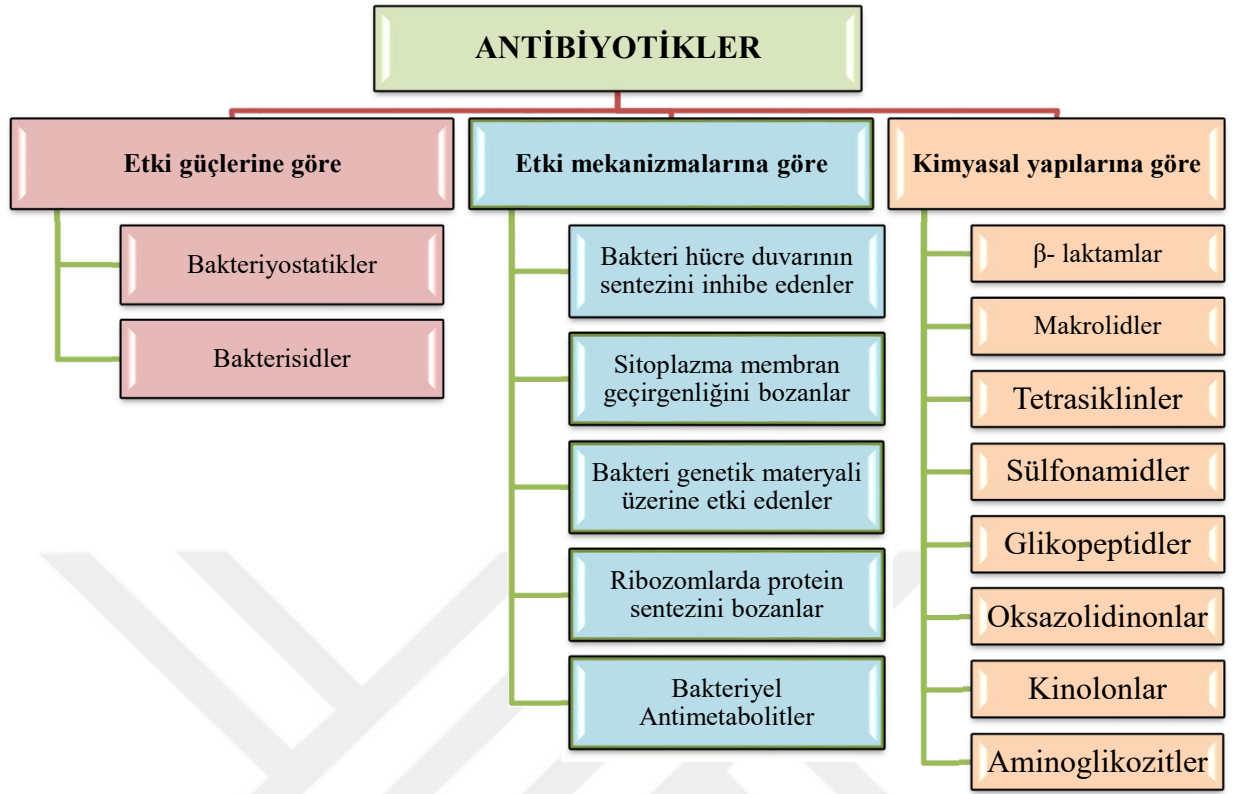
**Keywords:** Ciprofloxacin, Gentamicin, voltammetry, sensor, 2-thiophene methanol, 3-thiophene carboxylic acid, 3-methyl thiophene,  $\beta$ -cyclodextrin, p-toluene sulfonic acid.

## 1. GİRİŞ

Antibiyotik terimi, kelimenin tam anlamıyla “hayata karşı” anlamına gelen “antibiyoz” kelimesinden türetilmiştir. Geçmişte, antibiyotiklerin bir mikroorganizma tarafından üretilen ve diğer mikroorganizmalar için toksik olan organik bileşikler olduğu düşünülüyordu [1]. Geleneksel olarak, antibiyotik terimi, düşük konsantrasyonlarda diğer mikroorganizmaları öldüren veya büyümelerini engelleyen, ancak az miktarda konakçı hasarına neden olan veya hiç olmayan mikroorganizmalar tarafından sentezlenen maddeleri ifade eder. Antimikrobiyal ajan kelimesi ise, düşük konsantrasyonlarda mikroorganizmaların büyümesini engelleyen veya öldüren ancak, çok az konakçı hasarına neden olan veya hiç zarar vermeyen doğal, sentetik veya yarı sentetik kökenli herhangi bir maddeye karşılık gelir. Antibiyotikler ve antimikrobiyal ajanlar virüslere karşı aktivite göstermezler. Günümüzde bu iki terim sıklıkla birbirinin yerine kullanılır. Başka bir ifade ile antibiyotikler, bakteri kaynaklı enfeksiyon hastalıklarının tedavi edilmesi amacıyla kullanılan, insan ve hayvan sağlığı açısından çok büyük öneme sahip sentetik olarak üretilen veya biyolojik kaynaklı ilaçlardır [2].

### 1.1. Antibiyotiklerin Sınıflandırılması

Antibiyotikler çok çeşitli faktörlere göre sınıflandırılabilmelerine rağmen genellikle etki mekanizmalarına, etki güçlerine ve kimyasal yapılarına göre yapılan sınıflandırma yaygın olarak kullanılmaktadır (Şekil 1.1).



Şekil 1.1: Antibiyotiklerin sınıflandırılması.

### 1.1.1. Etki güçlerine göre antibiyotikler

Mikroorganizmalar üzerinde gösterdikleri etki derecelerine göre antibiyotikler bakteriyostatikler ve bakterisidler olmak üzere iki grupta sınıflandırılırlar.

#### 1.1.1.1. Bakteriyostatikler

Bakteri hücrelerinin gelişmesini veya üremesini önleyerek bu bakterilerin vücut savunma sistemleri tarafından kolaylıkla yok edilmesini sağlarlar. Bakteriyostatik etki eden antibiyotikler aşağıda listelenmiştir [3].

- Linkozamidler
- Sülfonamidler
- Makrolitler
- Amfenikoller
- Tetrasiklinler
- Mikonazol
- Metronidazol

Minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) terimi Bakteriyostatik etki gücünün göstergesi olarak kullanılmaktadır. MİK 18 veya 24 saatlik bir inkübasyondan sonra görünür büyümeyi önleyen en düşük antimikrobiyal ajan konsantrasyonudur [2].



### 1.1.1.2. Bakterisidler

Bakterileri doğrudan öldürerek yok eden antibiyotiklerdir. Bakterisid etki eden antibiyotikler aşağıda listelenmiştir [3].

- |                    |                |
|--------------------|----------------|
| ➤ Florokinolonlar  | ➤ Rifampisin   |
| ➤ Aminoglikozidler | ➤ Vankomisin   |
| ➤ Sefalosporinler  | ➤ Penisilinler |
| ➤ Polimiksinler    | ➤ Teikoplanin  |

Bakterisid etki gücünün göstergesi minimum bakterisid konsantrasyonu (MBK) terimi ile ifade edilir. MBK mikrobiyal hücrelerin % 99.9'unu öldüren minimum konsantrasyon olarak tanımlanır [2].

### 1.1.2. Etki mekanizmalarına göre antibiyotikler

Etki mekanizmasına göre antibiyotikler beş grupta incelenmektedir.

#### 1.1.2.1. Bakteri hücre duvarının sentezini inhibe eden antibiyotikler

Yapısal olarak, bakteri hücre duvarı, N-asetilmuramikten oluşan peptidoglikan adı verilen polisakkarit varlığıyla diğer tüm organizmalardan farklıdır. Diğer tüm organizmalar gibi, bakteri hücre duvarı da hücreye yapısal yönden tamamlanma sağlar; bu nedenle, bakteri büyümesini önlemek için en önemli süreç, bakteri hücre duvarlarının peptidoglikan katmanını inhibe ederek hücre duvarı sentezini durdurmaktır. Bu işlevi gerçekleştirmek için kullanılan ajanlara hücre duvarı sentez inhibitörleri denir ve bu ajanların varlığında büyüyen yeni bakterilerin hücre duvarı peptidoglikandan mahrumdur. Penisilin türevleri, Sefalosporinler, Monobaktamlar ve Karbapenemleri içeren Laktamlar, bakteri hücre duvarı sentezini inhibe eden başlıca antibiyotiklerdir. Bakteri sitoplazmasının içindeki yüksek osmotik basınca direnmek suretiyle, hücrenin bütünlüğünü koruma görevini üstlenen hücre duvarı herhangi bir nedenden dolayı oluşmazsa veya zayıflayacak olursa hücre şişerek parçalanır. Beta Laktam türevi antibiyotikler, bakteri hücre duvarı sentezini bozarak hücre duvarının oluşumuna engel olur. Hücre duvarı oluşmadığı için bakteri hücresi yaşamını yitirir. Bu tip ilaçlar gelişimini tamamlamış bakterilerde hücre duvarı oluştuğu için etki etmezken özellikle üremekte ve gelişmekte olan bakteriler üzerinde bakterisid etki gösterirler [4].

#### **1.1.2.2. Sitoplazma membran geçirgenliğini bozan antibiyotikler**

Sitoplazmayı kapsayan sitoplazmik zar, seçici bir bariyer görevi görür ve hücrenin iç kompozisyonunu kontrol eder. Bazı antiseptikler ve yüzeyde aktif antibiyotikler (deterjan özelliğine sahip) sitoplazma membranının geçirgenliğini artırarak, sitoplazma içindeki, fonksiyonel öneme sahip olan makromoleküllerin ve iyonların dışarı sızmalarına neden olarak bakterisid etki gösterirler. Bunların etkisinin, hücre duvarı sentezini bozan antibiyotiklerin aksine, bakterinin üreme ve gelişme döneminde olup olmaması ile herhangi bir ilişkisi yoktur; gelişimini tamamlamış bakterileri de etkisiz hake getirirler. Bu grupta yer alan antibiyotiklere örnek olarak Polimiksinler, Amfoterisin B, Gramisidin, Nistatin ve diğer birtakım antifungal ilaçlar ve Siklosporin A verilebilir [5].

#### **1.1.2.3. Bakteri genetik materyali üzerine etki eden antibiyotikler**

Enfeksiyöz hastalıkları tedavi etmek için kullanılan antibiyotiklerin en önemli hedeflerinden biri nükleik asit sentezini engellemektir. Bu amaç için kullanılan antibiyotiklere nükleik asit sentez inhibitörleri denir. Ökaryotik ve prokaryotik hücreler arasında Deoksiribo Nükleik Asit (DNA) ve Ribo Nükleik Asit (RNA) sentezi yapan enzimlerdeki etki farkı, antibiyotiğin gelişimini destekleyen seçici toksisiteye ulaşmaya yardımcı olur. Bu sınıftaki antibakteriyeller, DNA inhibitörleri ve RNA inhibitörleri olarak alt gruplara ayrılabilir. RNA inhibitörleri, daha sonra proteinlere dönüşüm için genetik materyalin haberci RNA transkriptlerinin üretildiği bakteriyel transkripsiyon sürecine müdahale eder. Rifamisin ailesinin iyi bilinen bir örneği olan Rifampin gibi RNA inhibitörleri, DNA'ya bağımlı RNA polimeraza bağlanır ve böylece RNA'nın uzamasını önleyen bir duvar oluşturur. Böyle bir durum, hücre ölümüyle sonuçlanan bakterilerin normal işlevini etkileyen gen transkripsiyonunu önler. Diğer tüm biyolojik polimerizasyon süreçleri gibi DNA sentezi de başlama, uzama ve sonlandırma aşamaları ile sağlanır; bu nedenle antibakteriyel ilaçlar, DNA sentezini inhibe etmek için bu işlemlerden herhangi birini hedefler. Kinolonlar DNA inhibitörleri olarak çalışır. Kinolonlar, DNA giraza bağlanır ve işlevlerini inhibe eder, bu da sonuçta hücre hasarına yol açan DNA replikasyonunun inhibisyonu ile sonuçlanır [4].

#### **1.1.2.4. Ribozomlarda protein sentezini bozan antibiyotikler**

Bu grupta yer alan ilaçların antibakteriyel spektrumları çoğunlukla geniştir. Hem gram-negatif hemde gram-pozitif mikroorganizmaların gelişmesini inhibe ederler. Çoğunlukla bakteriyostatik olup, az bir kısmı ise bakterisid etki göstermektedir (Aminoglikozidler).

Protein sentezini inhibe eden ilaçlar, en geniş antibiyotik sınıfları arasında olup 50S inhibitörleri ve 30S inhibitörleri olmak üzere iki alt sınıfa ayrılırlar. Bu ilaçların bazıları bakterilerin ribozomları ile kombine olurlar ve ribozomlar içinde, bakterinin genetik materyalinde kodlanmış bir transkript olan ve mesenger RNA (mRNA) tarafından yönetilen protein sentezini bozarlarken, genellikle memeli hücrelerindeki protein sentezini olumsuz etkilemezler.

50S ribozom inhibitörleri arasında Makrolid, Linkosamid, Streptogramin, Amfenikol ve Oksazolidinon antibiyotikleri yer alır. Genel olarak 50S ribozom inhibitörleri, protein translasyonunun başlamasını fiziksel olarak bloke ederek veya nakent peptit zincirini uzatan peptidiltransferaz reaksiyonunu inhibe eden peptidil-taşıyıcı RNA (tRNA)'ların translokasyonu ile çalışır.

30S ribozom inhibitörleri Tetrasiklin ve Aminosiklitol antibiyotik ailelerini içerir. Tetrasiklinler, aminoasil-tRNA'ların ribozomlara erişimini engelleyerek çalışır. Aminosiklitol sınıfı, 30S ribozom alt biriminin 16S ribozomal RNA (rRNA) bileşenini bağlayan Spektinomisin ve Aminoglikozit antibiyotik ailesinden oluşur. Spektinomisin, uzama faktörü ile katalizli translokasyonu inhibe ederek peptid-tRNA'nın ribozom bağlanmasına karşı stabilitesine müdahale eder ancak, proteinin hatalı translasyonuna neden olmaz. Aksine, Aminoglikozitler ve 16S rRNA arasındaki etkileşim, bir mRNA kodunu ve ribozomda aynı kökenli yüklü aminoasil-tRNA arasında oluşan kompleksin konformasyonunda bir değişiklik oluşturabilir ve bu da proteinin hatalı translasyonu ile sonuçlanabilen tRNA uyumsuzluğunu teşvik eder [6].

#### **1.1.2.5. Bakteriye antimetabolitler**

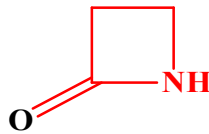
Sülfonamidler ve Trimetoprim gibi bazı antibiyotiklerin, bakterilerin hücresel metabolizması için gerekli bir substratı taklit ettiği gösterilmiştir. Bu aldatmaca, bakteriyel enzimlerin kendilerini normal substrattan ziyade antibiyotiğe bağlamasına neden olur. Özellikle, Sülfonamidler bakteri hücrelerinde folik asit sentezi için gerekli olan tetrahidrofolat gibi davranırlar. Folik asit, nükleik asit ve amino asitlerin metabolizmasında hayati önem taşır; bu nedenle Sülfonamidler, nükleik asitlerin (DNA-RNA) ve amino asitlerin, folik asit metabolizması için gerekli substratları taklit ettikleri için sonuçta nükleik asitlerin akışını bozarlar [1].

### 1.1.3. Kimyasal yapılarına göre antibiyotikler

Farklı kimyasal yapıya sahip antibiyotikler farklı terapötik davranış gösterir; bu nedenle, antibiyotikleri kimyasal yapılarına göre sınıflandırmak zorunlu bir ihtiyaçtır. Bu sınıflandırma, benzer yapısal birimlerin benzer toksisite, etkililik ve diğer ilgili özelliklere sahip olduğu için de çok önemlidir [4]. Kimyasal veya moleküler yapılarına göre antibiyotikler yaygın olarak  $\beta$ -laktamlar, Makrolidler, Tetrasiklinler, Kinolonlar, Aminoglikozitler, Sülfonamidler, Glikopeptidler ve Oksazolidinonlar olarak sınıflandırılırlar [1].

#### 1.1.3.1. $\beta$ - laktamlar

Bu grupta yer alan antibiyotikler, yapısında bir azot ve üç karbon olan dört üyeli bir  $\beta$ -laktam halkasına sahiptirler (Şekil 1.2). Bakterilerde hücre duvarının sentezi için gerekli proteinlere müdahale ederek onları öldürür veya büyümelerini inhibe ederler. Daha açık bir şekilde, penisilin bağlayıcı protein (PBP) olarak adlandırılan bazı bakteriyel enzimler, peptidoglikan sentezi sırasında peptit birimlerinin çapraz bağlanmasından sorumludur.  $\beta$ -laktam antibiyotik üyeleri kendilerini bu PBP enzimlerine bağlayabilirler ve bu süreçte, lizise ve hücre ölümüne neden olan peptidoglikan sentezine müdahale ederler.  $\beta$ -laktam sınıfının en önemli temsilcileri arasında Penisilinler, Sefalosporinler, Monobaktamlar ve Karbapenemler bulunur [1].

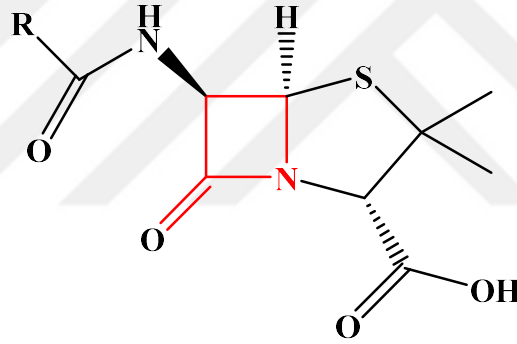


Şekil 1.2:  $\beta$ -laktam halkası.

#### Penisilinler

Penisilin, 1928 yılında Alexander Fleming tarafından keşfedilmiş, daha sonra Howard Walter Florey ve Ernst Boris Chain penisilini izole ederek ticari üretimde kullanılacak hale getirmişlerdir. Böylece tıp alanında antibiyotik çağı olarak adlandırılan dönem başlamıştır. Bakterisid etki gösteren Penisilinler bakteri hücre duvarı sentezini inhibe ederek etkilerini gösterirler. Penisilin genel yapısı şekil 1.3 de gösterilmiştir. Penisilin sınıfının üyeleri arasında Penisilin G, Penisilin V, Oksasilin (Dikloksasilin), Metisilin, Nafsilin, Ampisilin, Amoksisilin, Karbenisilin, Piperasilin, Mezlosilin ve Tikarsilin bulunur. Penisilin G, bu grup antibiyotikler ve aslında tüm antibiyotikler arasında üretilen ilk antibiyotiktir. Penisilin G'nin dar bir spektrumu vardır; sadece gram pozitif bakteriler

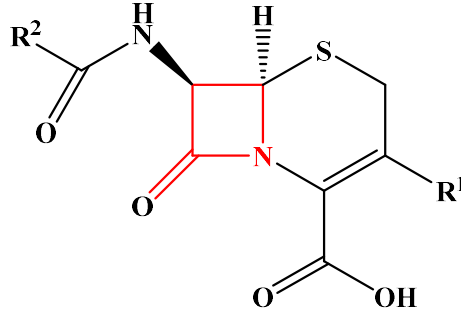
(streptokoklar) ve *Treponema pallidum* ve meningokoklar gibi bazı gram negatif bakteriler buna duyarlıdır. Bazı bakteriler enzimleri kodlayarak antibiyotiklerin aktivitesine karşı koyabilirler. Bunu göz önünde bulundurarak, Amoksisilin , Karbenisilin ve Ampisilin gibi bazı antibiyotikler, farklı yan zincirlerle yarı sentetik olarak geliştirilmiştir. Bu yan zincirler, antibiyotiklere, belirli bakteri suşları tarafından üretilen bazı enzimlerin bozunma kapasitesinden kaçınma ve aynı zamanda bu bakteriyel hücre duvarlarının dış zarından antibiyotiklerin hareketini kolaylaştırma yeteneği kazandırır. Bu çift yönlü yetenek gram-negatif bakterilere karşı etkinlik spektrumlarını artırır. Özellikle Augmentin gibi bazı Penisilinler, bakteriyel penisilinaz enziminin aktivitesini inhibe edebilen antibiyotik olmayan bileşik ile kombinasyon halinde üretilir. Augmentin aslında Amoksisilin (antibiyotik) ve antibiyotik olmayan bir bileşik olan klavulanik asit içeren bir ilaçtır. Klavulanik asit  $\beta$ -laktamaz enzimini inhibe edebilir, böylece Augmentin amoksisilin bileşeninin penisilinaz üreten bakteriler arasında bile antibakteriyel aktivitesini uzatabilir [1].



Şekil 1.3: Penisilin yapısı.

### Sefalosporinler

En sık reçete edilen ve uygulanan antibiyotik gruplarından biridir. Sefalosporin bileşikleri ilk olarak 1948 yılında İtalyan bilim adamı Giuseppe Brotzu tarafından *Sefalosporium akremonyum* kültürlerinden izole edildi. Sefalosporinler doğal olarak bir mantar olan *Sefalosporium akremonyum* dan elde edilen Sefalosporin C'den elde edilir. Sefalosporinler 7-aminosefalosporanik asit çekirdeği ve 3,6-dihidro-2 H-1,3-tiazan halkaları içeren yan zincir içerir (Şekil 1.4) ve ortak bir  $\beta$ -laktam halkasını paylaştıkları için yapısal ve fonksiyonel olarak penisilinler ile benzerlik gösterirler. Sefalosporinler, bir  $\beta$ -laktam halkasına bağlı kükürt atomuna sahip altı üyeli bir halkadan oluşur [7].

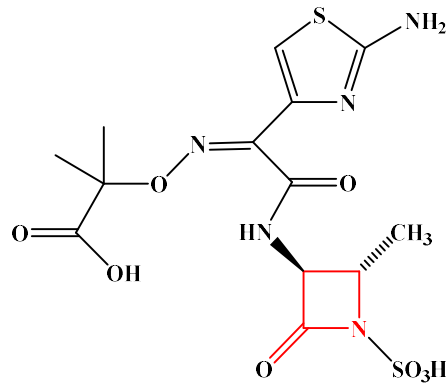


**Şekil 1.4:** Sefalosporin yapısı.

Sefalosporinler, spektrum, nesil, kimyasal yapı,  $\beta$ -laktamazlara direnç ve klinik farmakoloji gibi farklı özelliklerine göre sınıflandırılabilir.

### Monobaktamlar

Bu antibiyotik ilk olarak Skyes ve arkadaşları tarafından keşfedilmiştir. Antibiyotik *Chromobacterium violaceum* bakterisinden elde edilmiştir. Monobaktamlar  $\beta$ -laktam bileşiklerinin bir parçasıdır ancak diğer  $\beta$ -laktamların aksine, monobaktamların  $\beta$ -laktam halkası tektir ve başka bir halkaya kaynaşmamıştır (Şekil 1.5). Aztreonam, dar bir aktivite spektrumuna sahip, piyasada bulunan tek monobaktam antibiyotiktir. Aztreonam sadece *Neisseria* ve *Pseudomonas* gibi aerobik gram-negatif bakterilere karşı etkilidir; bu bakteri gruplarının neden olduğu zatürre, septisemi ve idrar yolu enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılır. Monobaktamlar gram pozitif bakterilere veya anaeroblara karşı etkili değildirler [1].

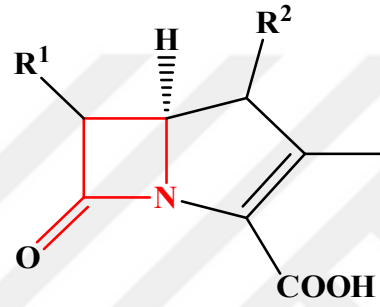


**Şekil 1.5:** Monobaktam yapısı.

### Karbapenemler

Karbapenemlerde, Sefalosporinler ve Penisilinlerde olduğu gibi molekül yapısında başka bir halka ile kaynaşmış  $\beta$ -laktam halkası bulunur, Penisilindekine benzer bisiklik (iki

halkalı) bir çekirdeğe sahiptirler.  $\beta$ -laktam halkasına bitişik olan 5 üyeli halkada kükürt bulunmayışı nedeniyle Penisilinlerden farklı bir yapı gösterir (Şekil 1.6). Karbapenemler bakteriyel enfeksiyonlara karşı mücadelemizde çok önemli bir yer tutar. Bunun nedeni  $\beta$ -laktamaz enziminin hidrolitik etkisine direnebilmeleridir. Bilinen yüzlerce  $\beta$ -laktam arasında, Karbapenemler gram-negatif ve gram-pozitif bakterilere karşı en geniş aktivite spektrumuna ve en büyük potansiyele sahiptir. Genellikle “son çare antibiyotikleri” olarak adlandırılırlar ve enfeksiyonlu hastalar ağırlaştıklarında veya dirençli bakterilere sahip olduklarından şüphelenildiklerinde uygulanırlar. Karbapenem sınıfının üyeleri arasında İmipenem, Meropenem, Ertapenem Doripenem, Tomopenem, Panipenem, Biapenem, Faropenem ve Tepipenem pivoksil bulunur.



Şekil 1.6: Karbapenem yapısı.

### 1.1.3.2. Makrolidler

Makrolidler, gram-pozitif bakterilere karşı geniş bir aktivite spektrumuna sahip bakteriyostatik antibiyotiklerdir. Adından da anlaşılacağı gibi, makrolidler tipik olarak 12 veya daha fazla atomdan oluşan makrosiklik lakton halkalarıdır. Makrolid antibiyotikler, genellikle Kladinoz veya Desosamin gibi bir veya daha fazla şeker içeren bakteriyostatik ilaçlardır. Eritromisin keşfedilen ve klinik kullanıma giren ilk Makrolid antibiyotiktir. Eritromisin 14 üyeli bir lakton halkası, iki şeker, Desosamin ve Kladinoz içerir. Keşfedilen ilk makrolid antibiyotik olan Eritromisin, özellikle penisiline alerjisi olan hastalarda üst solunum yolu ve hassas organizmaların neden olduğu cilt ve yumuşak doku enfeksiyonlarının tedavisi için 1950'lerin başından beri kullanılmaktadır [8].

### 1.1.3.3. Tetrasiklinler

Tetrasiklin antibakteriyeller, Streptomyces bakteri cinsi veya bu bileşiklerin yarı sentetik türevleri tarafından sentezlenen polisiklik geniş spektrumlu antibiyotiklerdir. *Psödomonas aeruginosa* gibi birkaç istisna dışında, tetrasiklinlerin çoğu gram-pozitif ve gram-negatif bakteriler için hem aerobik hem de anaerobik bakteriyostatik aktiviteleri

vardır. Tetrasiklinler protein sentezi inhibitörleri olarak işlev görür. Tetrasiklinler, ribozomların 30S alt birimine bağlanır. Bağlanmanın bir sonucu olarak, aminoasıl-tRNA'nın bağlanması önlenir. Yeni ortaya çıkan peptit zincirine amino asitlerin ilave edilmesi önlenerek protein sentezi inhibe edilir [9].

#### 1.1.3.4. Sülfonamidler

Sülfonamidler sentezlenen ilk antimikrobiyal ilaçlardır. Sülfonamidlerin antimikrobiyal etkisinin mekanizması, mikroorganizmaların büyümesini ve çoğalmasını önleyen folik asit sentezinin inhibisyonuna dayanır. Bu etki mekanizması nedeniyle, Sülfonamidler bakteriyostatik ajan grubuna aittir. 20. yüzyılın başlarında Prontosil'in (Prontosil rubrum) antimikrobiyal etkisinin keşfi kemoterapi gelişiminin başlangıcını oluşturmaktadır. Bu keşif için Gerhard Domagk 1939'da Nobel Tıp Ödülü'ne layık görülmüştür. Prontosil, Sülfonamid yapısına sahip bir azo-boyadır. İnsan vücudunda Prontosil, Sülfanilamide dönüştürülür. Sülfonamidler, gram-pozitif ve bağırsak bakterileri *Escherichia coli*, *Shigella*, *Salmonella*, *Klebsiella* ve *Enterobacter* türleri gibi bazı gram-negatif bakterilere karşı etkili geniş spektrumlu antimikrobiyal ilaçlardır. Sülfonamidler, folik asit metabolizması döngüsünde para-aminobenzoik asit (PABA) inhibitörleri olarak davranarak bakterilerin çoğalmasını engellemektedirler [10].

#### 1.1.3.5. Glikopeptidler

Glikopeptid antibiyotikleri, bakteri hücre duvarının sentezini inhibe ederek etki gösterirler. Glikopeptidler, çeşitli filamentli aktinomisetler grubu tarafından üretilen glikosile siklik veya polisiklik nonribozomal peptitlerdir. Vankomisin, klinik kullanımda en iyi bilinen glikopeptitlerden biridir. Bu antibiyotik önce toprak aktinobakterilerinden izole edilmiştir. Vankomisin, diğer antibakteriyellere bilinen veya şüphelenilen direnci olan gram-pozitiflerin neden olduğu ciddi enfeksiyonları tedavi etmek için kullanılır. *Clostridium difficile*'nin bağırsak enfeksiyonu da Vankomisin ile tedavi edilebilir. *Neisseria* hariç, Vankomisinin gram negatif bakterilere karşı aktif olmadığı bilinmektedir. Glikopeptitler, enterokoklar, Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* ve *Clostridium difficile* gibi gram-pozitif patojenlerin yol açtığı çok ciddi enfeksiyonlara karşı tedavi için kullanılan çok yaygın terapötik sınıftır. Bu terapötikler, peptidoglikana bağlanarak ve daha sonra sitoplazmik membranın dış yüzeyi üzerindeki peptidoglikan içinde ve arasında peptitleri çapraz bağlayarak gram-pozitif bakterileri hedeflemektedirler [11].



### 1.1.3.6. Oksazolidinonlar

Oksazolidinonlar, bakteriyel protein sentezinin erken bir aşamasını hedefleyen protein sentez inhibitörleridir. Bu bakteriyostatik sentetik antibakteriyel ajanlar, genellikle son çare tedavisi olarak yüksek dirençli gram-pozitif bakterilere karşı kullanılır. Linezolid, Ranbezolid ve Tedizolid, Oksazolidinonlara örnektir. Oksazolidinonlar, Metisiline dirençli *Staphylococcus-aureus*, Penisiline dirençli streptokoklar ve Vankomisine dirençli enterokoklar dahil olmak üzere çoğul dirençli gram pozitif patojenlere karşı aktif olan yeni bir sentetik antibakteriyel madde sınıfını temsil eder. Oksazolidinonlar, N-formilmetiyonil-tRNA'nın ribozoma bağlanmasını içeren erken bir aşamayı hedefleyen protein sentez inhibitörleridir [12].

### 1.1.3.7. Kinolonlar

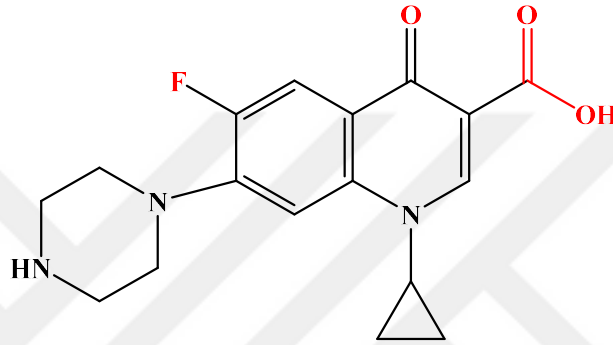
Kinolonlar, insanlarda idrar yolu enfeksiyonları için kullanılan bakteriyostatik etki sergileyen sentetik antibakteriyel ajanlardır. Klinik kullanımdaki çoğu Kinolonlar Florokinolonlardır, yani merkezi bisiklik sisteme, tipik olarak C6 veya C7'de bağlı bir flor atomu içerirler. Kinolonlar ve Florokinolonlar, replikasyon ve transkripsiyon sırasında oluşan DNA-topoizomerez kompleksini stabilize ederek etki eder. Florokinolonlar, *Legionella pneumophila* ve *Mycoplasma pneumoniae*'ye karşı aktiviteye sahiptir. 1960'lı yıllarda Nalidiksik asidin antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu keşfedildi. Bu özelliğin keşfinden bu yana, Nalidiksik asidin analogları olan birçok sentetik Kinolon antibiyotik geliştirilmiştir. Florokinolonlarda, Enoksasinin gelişmesiyle bir atılım yapıldı. Bu bileşik geliştirilmiş aktivite spektrumuna sahiptir. Ayrıca flor ile sübstitüsyonun bakteri alımını arttırdığı keşfedildi. Enoksasin içindeki piperazinil halkası gibi temel sübstituentlerin ilacın farmakokinetik özelliklerini artırdığı görülmektedir. Siprofloksasin (SİP), bir siklopropan halkası olan bir Enoksasin türevidir. Şu anda Kinolonlar antibakteriyel spektrumlarına göre 4 kuşakta incelenmektedir. 1. Nesil, Rosoxacin; 2. Nesil, Enoksasin ve SİP; 3. Nesil, Tosufloksasin; 4. Nesil ise Gemifloksasin ve Besifloksasindir [13].

### Siprofloksasin (SİP)

Genellikle orijinal ticari adı Cipro olarak adlandırılan SİP, dünyada yaygın olarak bakteriyel enfeksiyonlar için reçete edilen antibiyotiklerden biridir. Kinolon antibakteriyel sınıfının bir üyesidir. 1980'lerde Bayer Pharmaceuticals'taki bilim adamları, Norfloksasinin etil grubunun bir siklopropil grubuyla değiştirilmesinin gram-

negatif bakterisidal aktivitesini büyük ölçüde arttırdığını keşfettiler. 1987'de Bayer, oral yoldan uygulanan SİP için Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) onayı aldı; intravenöz formu ise 1991 yılında onaylandı. Şimdi ise Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 'nın temel ilaçlar listesinde yer almaktadır.

Uluslararası temel ve uygulamalı kimya birliği (IUPAC) tarafından 1-Cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid olarak isimlendirilir (Şekil 1.7). Bakterisidal olan SİP, DNA replikasyonu için gerekli bir enzim olan DNA girazı bağlayarak ve inhibe ederek etki gösteren bir Florokinolon antibiyotik türüdür [14].



Şekil 1.7: Siprofloksasinin yapısı.

SİP hem gram pozitif hem de gram negatif organizmalara karşı etki göstermektedir. Yapısındaki 3. ve 4. pozisyonlarda yer alan sırasıyla bir COOH ve C=O gruplarının genellikle Kinolonların DNA girazına bağlanması için gerekli olduğu düşünülmektedir. Yeni Kinolonların yapısında yer alan flor (F) gram negatif mikroorganizmalara karşı olan etkinliklerini artırarak, aynı zamanda hücreye girişlerini de kolaylaştırır [15].

SİP sinüzitte, akciğer enfeksiyonlarında, idrar yolu enfeksiyonlarında, orta kulak iltihabı, genital organların enfeksiyonlarında, göz enfeksiyonlarında, sindirim sistemi ve karın içi enfeksiyonlarda, kemik ve eklemlerde oluşan enfeksiyonlarda, deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarında, kanda oluşan enfeksiyonlarda, bağışıklık sistemi zayıf olan kişilerde meydana gelen enfeksiyonlarda, enfeksiyon riskinin yüksek olduğu durumlarda ve bağışıklık sistemi baskılanan hastaların bağırsak enfeksiyonlarında kullanılır [16].

Plazmada genelde iyonize olmamış formda bulunan SİP'in protein bağlama düzeyi oldukça düşüktür (%20-30). SİP akciğer (alveolar makrofajlar, epitel sıvısı, biyopsi dokusu), iltihaplı lezyonlar (kantarid kaynaklı kabarcık sıvısı) sinüs ve ürogenital sistem (ürin, endometrium, prostat) gibi çeşitli dokularda yüksek konsantrasyon seviyesine

ulaşabilir; buradaki toplam konsantrasyon plazma konsantrasyonundan fazladır. SİP, çoğunlukla böbreklerden, düşük bir oranda ise feçes yolu ile vücuttan atılır. Böbrek fonksiyonları normal olan gönüllülerde serum eliminasyon yarılanma ömrünün yaklaşık 4-7 saat olduğu bildirilmiştir.

#### **1.1.3.8. Aminoglikozitler**

Selman Waksman'ın 1944'te Streptomisin'i keşfinden bu yana, Aminoglikozitler antibakteriyel ilaç tedavisinin ön saflarında yer almıştır. Her ne kadar Streptomisin ilk antibiyotik olmasa da, keşfi antibiyotik tarihinde bir dönüm noktasıydı. Yüzyıllardır insan morbidite ve mortalitesinin bir nedeni olan tüberküloz için ilk etkili terapötiktir. Bu geniş spektrumlu antibiyotikler bakteriyel protein sentezini inhibe ederek etki gösterirler [17]. Aminoglikozit antibiyotikler klinik olarak keşfedilen ve kullanılan ilk antibiyotikler arasındaydı. Hiçbir zaman tamamen gözden düşmemiş olsalar da, daha az yan etkisi olan diğer geniş spektrumlu antibiyotiklerin ortaya çıkması nedeniyle önemleri azalmıştır. Günümüzde, çoklu ilaca dirençli bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların hızlı bir şekilde artmasıyla birlikte, özellikle gram-negatif patojenler için kalan az sayıdaki tedavi seçeneğinden biri olarak Aminoglikozit antibiyotiklere geri dönülmüştür. Dikkate değer Aminoglikozitler arasında Neomisin, Gentamisin (GNS), Tobramisin, Sisomisin, Dibekasin, Amikasin, Arbekasin, İzepamisin ve Netilmisin bulunur [18].

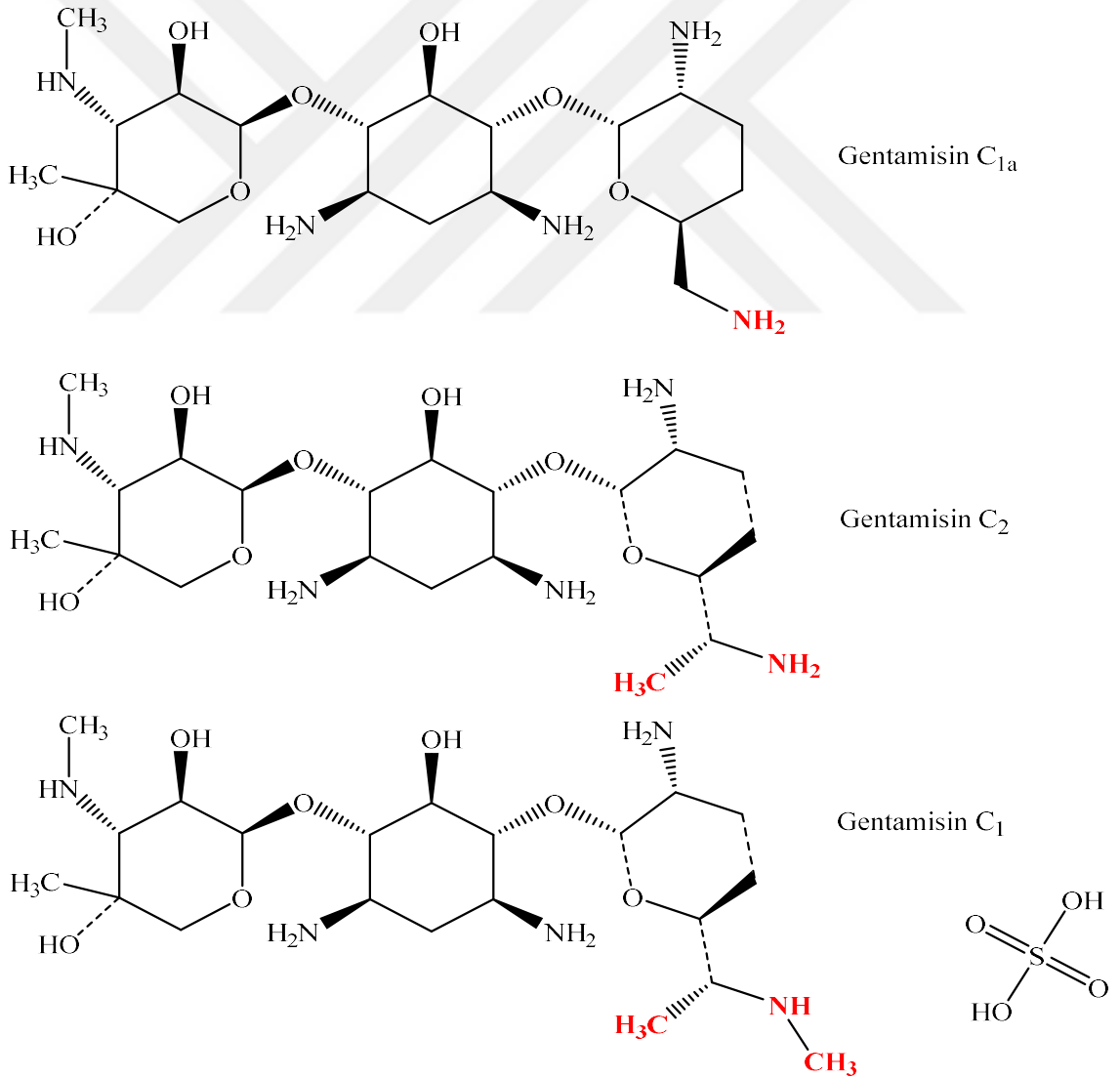
#### **Gentamisin (GNS)**

GNS, *Micromonospora purpurea* veya *Micromonospora echinospora*'nın fermentasyonu ile üretilen geniş spektrumlu bir Aminoglikozit antibiyotiktir. GNS, ilaçlarda üç ana bileşenden (C1, C1a, C2) oluşan bir antibiyotik kompleksidir (Şekil 1.8). Bu ajan, bakteriyel 30S ribozomal alt birimine geri dönüşümsüz bir şekilde bağlanarak protein sentezini engeller ve bakterisidal etkiye neden olur. Aminoglikozitler çoğunlukla anaerobik bakteri, mantar ve virüslere karşı etkisizdir [19].

GNS, özellikle immün sistemi baskılanmış hastalarda ve mikobakteriyel enfeksiyonların tedavisinde, gram negatif ve gram pozitif enfeksiyonların tedavisi için klinik olarak kullanılan bir sınıf antimikrobiyal ajan olan Aminoglikozitlere aittir. Polikationik yapıları nedeniyle parenteral uygulama gerektirirler. Plazma konsantrasyonları, böbrekler ve odyovestibüler aparat üzerindeki doza bağı olumsuz etkiler nedeniyle dar bir terapötik pencerede tutulmalıdır [20]. GNS hem insanlarda hem de hayvanlarda kullanılan bir antibiyotik türüdür. At, köpek, kedi ve sığırlarda; ürogenital sistem enfeksiyonları,

solunum sistemi enfeksiyonları, *salmonella*, *kolibasillois* ve GNS'ye duyarlı bakterilerin neden olduğu sepsisemi, bakteriyemi ve yumuşak doku enfeksiyonları gibi hastalıkların tedavisi amacıyla kullanılmaktadır.

GNS, kas içi yolla verildiğinde yaklaşık 15 dakika içinde etkili olur ve bir saat içerisinde kanda maksimum yoğunluk seviyesine ulaşır. %25-30 gibi bir oranında serum proteinlerine bağlanır. Vücut dokularına hızlı ve geniş bir şekilde dağılır. Periton, plöra ve plasenta boşluklarına geçer. Büyük bir kısmı değişmemiş olarak idrar yoluyla vücuttan atılır. Çok az miktarlarda safra ve süt yoluyla da atılır. İlaç prospektüsünde yer alan bilgiye göre ilaç kalıntı arınma süresi; Tedavi süresince ve son ilaç uygulandıktan sonra besi amaçlı yetiştirilen sığırlar 80 gün geçmeden kesilmemelidir. Tedavi süresince ve son ilaç uygulandıktan sonra 4 sağımlık (2 gün) süreyle elde edilen sütler insan tüketimine sunulmamalıdır.



Şekil 1.8: Gentamisin sülfatın yapısı.

## **1.2. Antibiyotik Direnci**

Antibiyotik direnci, bakterilerin çevrelerine çok hızlı uyum sağlayabildiklerinin bir göstergesidir. Antibiyotiğe karşı direnç, herhangi bir antibiyotiğin normal tedavi dozunda kullanılması halinde direnç kazanmış olan bakterileri öldürememesi veya çoğalmalarına engel olamaması olarak ifade edilmektedir. Antibiyotiklerin keşfiyle birlikte eş zamanlı olarak, mikroorganizmalar tarafından antibiyotiklere karşı direnç kazanılabileceği bu nedenle gerekli tedbirlerin alınmaması halinde kullanılan antibiyotiklerin enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde etkili olmayacağı, dolayısıyla da antibiyotik öncesi dönemle tekrardan karşılaşılabilen öngörülmüştür. Bakterilerde antibiyotiklere karşı direnç gelişimi genellikle gereksiz ve uygunsuz antibiyotik kullanımının bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Yoğun antibiyotik kullanımı ile yıllar boyunca dirençli mikroorganizmalar ortaya çıkmış ve bu dirençli mikroorganizmalar ile ortaya çıkan enfeksiyonların tedavisi için sorunlar yaşanmaya başlanmıştır. Antibiyotiklere karşı direnç gelişimi tüm dünya için çok önemli bir halk sağlığı problemi olarak kabul edilmektedir. Antibiyotik direncinin korkulan boyutlara ulaşmasını engellemenin yollarından biri yeni antibiyotiklerin keşfi olarak kabul edilmektedir. Antibiyotik direnci uzun süreli hastanede kalmaya, mortalitenin artmasına ve daha yüksek tıbbi maliyetlerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Tüm dünyada reçete yazma ve antibiyotik kullanma konusunda davranış değişikliğine ihtiyaç duyulmaktadır. Davranış değişikliği olmadan yeni ilaçlar sentezlense dahi, antibiyotik direnci tüm dünyaya için önemli bir tehdit olmaya devam edecektir. Hayvanlarda enfeksiyon hastalıklarının tedavisi için sadece veteriner hekim gözetiminde antibiyotik verilmesi, büyümeyi desteklemek veya sağlıklı hayvanlarda ileride oluşabilecek hastalıkları önlemek için antibiyotiklerin kullanılmaması da antibiyotik direncini azaltmak açısından alınacak tedbirler arasında yer almaktadır [21].

## **1.3. Gıda Değeri Olan Hayvanlarda Antibiyotik Kullanılması**

Hayvan sağlığı ve yetiştiriciliğinde ilaçlar; hastalıkların önlenmesi ve sağaltımı, gelişiminin hızlandırılması, verimin artırılması, hayvanların davranışlarının değiştirilmesi ve gıda kalitesinin iyileştirilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Bu amaçlar için kullanılan ilaçlar; hayvanlarda, faydalı ve zararlı etkiler olmak üzere iki tür etki oluşturur. Faydalı etkileri; hastalıklar hafifleyebilir, iyileşebilir, koruyucu veya önleyici etki oluşabilir ya da hayvanın gelişimi hızlanabilir, gıda kalitesinde iyileşme ve verim

artışı sağlanabilir. Zararlı etkiler olarak; doku ve organlarda hasar, dirençli bakteri suşları ve gıdalarda kalıntı riski gibi istenilmeyen durumlar ortaya çıkabilir.

Hayvanlarda yukarıda belirtilen amaçlar doğrultusunda kullanılan antibiyotiklerin veya diğer ilaçların birçoğu hayvanların vücudunda kısmen parçalanıp etkisiz hale gelirken, bazıları da son derece yavaş parçalanmaları ve vücuttan atılamamaları nedeniyle dokularda birikirler. Dokularda biriken bu antibiyotikler gıda zincirine girerek, son tüketici konumundaki insanlara kadar ulaşır. Hayvansal kaynaklı gıdalardaki ilaç kalıntıları; insan sağlığı açısından önemli bir sorun oluşturur. Besin değeri olan hayvanlarda bilinçsiz antibiyotik kullanımı devam ettiği müddetçe bal, süt, et ve yumurta gibi gıdalarda ilaç kalıntılarının bulunması sürekli güncelliğini koruyacaktır [22].

Ülkemizde Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından hayvansal ürünlerde antibiyotik kalıntılarının kontrolü ile ilgili yasal düzenlemeler yapılarak uygulamaya konulmuştur. Yapılan düzenlemelerde antibiyotikler ve diğer veteriner ilaçlarının kalıntıları için Maksimum Kalıntı Limiti (MKL) değerleri belirtilmiştir. MKL, besin maddesi olarak kullanılan besinler içerisinde bulunmasına izin verilen ilaç kalıntı miktarıdır. Hayvansal besinlerde bulunan antibiyotik kalıntılarının, insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkilerinden dolayı, hayvansal dokularda kalıntı miktarı ile ilgili analizlerin yapılması son derece önemlidir [23]. Kalıntı analizlerinde kullanılan çeşitli metotlara literatür özeti kısmında yer verilmiştir.

#### **1.4. Literatür Özeti**

##### **1.4.1. Siprofloksasin için literatürde yer alan tayin yöntemleri**

**Hosseini ve diğ. (2019)** Kobalt Demir Oksit ( $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ ) ve çok duvarlı karbon nanotüp (MWCNT) ile modifiye edilmiş Camsı Karbon Elektrot (GCE) kullanarak geliştirdikleri yöntem ile  $0.036 \mu\text{M}$  tayin sınırında ve  $0.1\text{-}30 \mu\text{M}$  lık doğrusal aralıkta SİP'in elektrokimyasal tayinini gerçekleştirmişlerdir [24].

**Jalal ve diğ. (2019)** Polietilenimin, Demir 3 Oksit ve MWCNT kullanarak modifiye ettikleri GCE ile biyolojik numunelerde SİP tayinini gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada modifiye edilen elektrod üzerinde SİP'in elektrokimyasal davranışı Diferansiyel Puls Voltametrisi (DPV) tekniği kullanılarak incelenmiş; geliştirdikleri bu yöntem ile  $3 \text{ nM}$  tayin sınırı ve  $0.03\text{-}70 \mu\text{M}$  doğrusal aralıkta SİP tayinini yaparak, idrar ve serum örneklerinde başarılı bir şekilde uygulamışlardır [25].

**Radicova ve diğ. (2017)** Bor Katkılı Elmas Elektrot (BDD) kullanarak insan idrarında SİP tayinini Kare Dalga Voltametrisi (SWV) tekniği ile gerçekleştirmişlerdir. Geliştirilen yöntem 0.15-2.11  $\mu\text{M}$  doğrusal aralıkta ve 0.05  $\mu\text{M}$  tayin sınırı ile insan idrar örneklerinde SİP tayininde başarıyla uygulanmıştır [26].

**Madrakian ve diğ. (2017)** gerçek örneklerde SİP tayini için 3-merkaptopropiyonik asit başlıklı kadmiyum-sülfür kuantum noktalarına dayanan hassas bir flüoresans probu hazırlayarak 0.13-150  $\mu\text{M}$  doğrusal aralıkta ve 0.04  $\mu\text{M}$  tayin sınırında farmasötik preparatlarda ve insan serum örneklerinde SİP tayinini gerçekleştirmişlerdir [27].

**Abdel-Haleem ve diğ. (2017)** karbon pasta ve Nano-Kompozit Karbon pasta elektrot (CPE)' ları kullanarak fizyolojik sıvılarda SİP'in potansiyometrik tayinini sırasıyla 79 ve 10  $\mu\text{M}$  tayin sınırı ile gerçekleştirmişlerdir [28].

**Okan ve diğ. (2017)** su kaynaklarında SİP molekülünün tayini için kolayca uygulanabilen moleküler baskılı polimer (MIP) bazlı mikromekanik konsol sensör sistemi geliştirerek, SİP'i 1.5-150.9  $\mu\text{M}$  konsantrasyon aralığı içinde doğrusal olarak tayin etmişlerdir [29].

**Stefano ve diğ. (2016)** SİP amperometrik tayini için MWCNT modifiye yüzey baskılı elektrot (SPE), kitle enjeksiyon analizi ve akış enjeksiyon analizi ile amperometrik algılama arasındaki ilişkiyi karşılaştırmışlardır. Her iki analitik yöntem ile geniş lineer aralıkta (200  $\mu\text{M}$ 'a kadar) ve 0.1  $\mu\text{M}$  tayin sınırı ile SİP'in tayinini başarılı bir şekilde gerçekleştirmişlerdir [30].

**Shan ve diğ. (2015)** Cd(II) ile modifiye ettikleri grafen elektrot (GE) ile Anodik Sıyırma Voltametrisi (ASV) ile SİP'in dolaylı elektrokimyasal tayini farmasötik formülasyonlarda ve insan idrarında 0.1-10  $\mu\text{M}$  doğrusal aralıkta ve 0.59  $\mu\text{M}$  tayin sınırı ile gerçekleştirmişlerdir [31].

Ayrıca Montes ve diğ. (2014) amperometrik ve kılcal elektroforez ile toplu enjeksiyon analizi yöntemlerini kullanarak [32]; Torriero ve diğ. (2006) dönen enzimatik biyosensör kullanarak biyolojik sıvılarda SİP ve norfloksasinin [33]; Obaydo ve Sakur (2019) spektrofotometrik yöntemle [34]; Sagirli ve diğ. (2016) sıvı kromatografi (LC) yöntemiyle [35]; Vella ve diğ. (2015) Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemiyle [36] SİP'i tayin etmişlerdir.

#### **1.4.2. Gentamisin için literatürde yer alan tayin yöntemleri**

**Khaled ve diğ. (2017)** Kaliksaren ve MWCNT ile modifiye ettikleri SPE kullanarak 0.1  $\mu\text{M}$  – 10 mM doğrusal aralıkta ve 0.75  $\mu\text{M}$  tayin sınırında Gentamisin sülfatın (GNS)

potansiyometrik tayinini yapmışlardır. Geliştirdikleri yöntem farmasötik preparatlarda ve GNS ilave edilmiş yüzey suyu örneklerinde başarılı bir şekilde uygulanmıştır [37].

**Almeida ve diğ. (2019)** Kanamisin şablon baskılı bir polimer kullanarak katı faz ekstraksiyonundan sonra toplu enjeksiyon amperometrisi yöntemini kullanarak 27  $\mu\text{M}$  tayin sınırı ile GNS tayinini gerçekleştirmişlerdir [38].

**Zhang ve diğ. (2018)** HPLC/Tandem Kütle Spektrometrisi (Tandem MS) ile katı faz ekstraksiyonundan sonra hayvan dokularında dört ana GNS bileşeninin belirlenmesi işlemini başarılı bir şekilde gerçekleştirmişlerdir [39].

**Rodriguez ve diğ. (2015)** Sıvı kromatografi-kütle spektrometrisi (LC/MS) yöntemini kullanarak GNS türevlerini tayin etmişlerdir [40].

**Beloglazova ve diğ. (2016)** İmmünokimyasal yöntemler geliştirerek 5  $\mu\text{g/Kg}$  tayin sınırı ile sütte GNS' nin kantitatif ve kalitatif tayinini gerçekleştirmişlerdir [41].

**Abt ve diğ. (2016)** BDD Elektrotlar kullanarak N-acetylcysteine ve GNS'nin elektrokimyasal tayinini yapmışlardır. Bu çalışmada GNS, 0.2-50  $\mu\text{g/mL}$  doğrusal aralıkta ve 1.714  $\mu\text{g/mL}$  tayin sınırı ile DPV yöntemi kullanılarak tayin edilmiştir [42].

### 1.5. Amaç

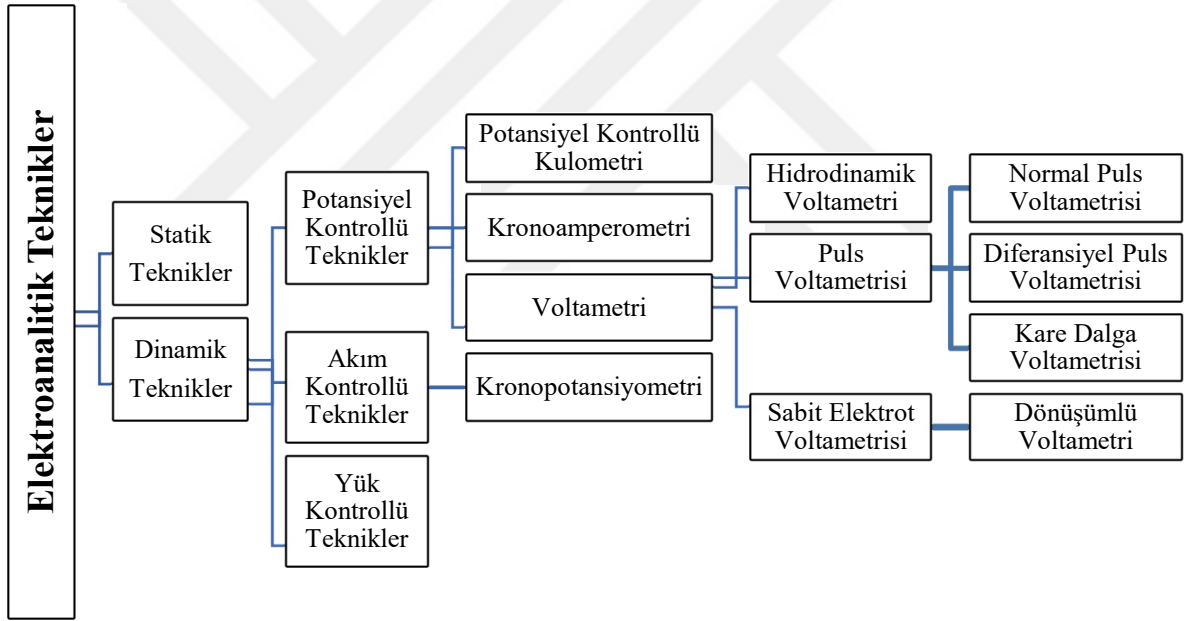
Antibiyotikler, hastalıkların tedavisinde en çok kullanılan ilaç türlerinden biridir. Ancak etki güçleri gün geçtikçe yaygınlaşan bakteriyel direnç nedeniyle azalmaktadır. İnsanların antibakteriyel ajanları yanlış kullanmaları, hayvanlarda hastalıkların iyileştirilmesi ve önlenmesi dışında, verimin artırılması, gelişiminin hızlandırılması ve besin değerinin iyileştirilmesi amacıyla kullanılması antibiyotiğe dirençli bakteri suşlarının artmasına yol açmıştır. Bu yüzden biyolojik sıvılarda, dokularda, et, süt ve bal gibi besin maddelerinde antibiyotik kalıntılarının kontrolü son derece önem arz etmektedir. Yukarıda verilen literatür özetinde görüldüğü gibi antibiyotik tayini için geliştirilen ve sık kullanılan en ileri yöntemler doğruluğu ve kesinliği yüksek olan kromatografik yöntemlerdir. Ancak bu yöntemler yüksek maliyet, karmaşık işlem basamaklarından oluşması ve uzun zaman alması gibi dezavantajlara sahiptir. Bu nedenle kalıntı antibiyotik düzeyinin kolayca saptanabileceği, hızlı, duyarlı, ucuz ve uygulanması kolay tayin yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu tez kapsamında, SİP ve GNS tayinine yönelik kolay bir şekilde uygulanabilen, hızlı, düşük maliyetli voltametrik sensörler geliştirilmesi hedeflenmektedir.



## 2. KURAMSAL TEMELLER

### 2.1. Elektroanalitik Yöntemler

Elektroanalitik yöntemler, çözeltideki bir analiti incelemek için elektrokimyasal hücredeki potansiyeli ve/veya akımı ölçerek analitin kalitatif ve kantitatif analizi için kullanılan elektrokimyasal tekniklerdir. Elektroanalitik yöntemler bir elementin belirli bir oksidasyon durumu için spesifiktir ve enstrümantasyon diğer yöntemlere göre nispeten ucuzdur. İyonların taşıma özelliklerinin ölçülmesine dayanan elektroanalitik teknikler arasında voltametrik teknikler büyük öneme sahiptir. Elektroanalitik tekniklerin genel olarak sınıflandırılması Şekil 2.1 de gösterilmiştir.

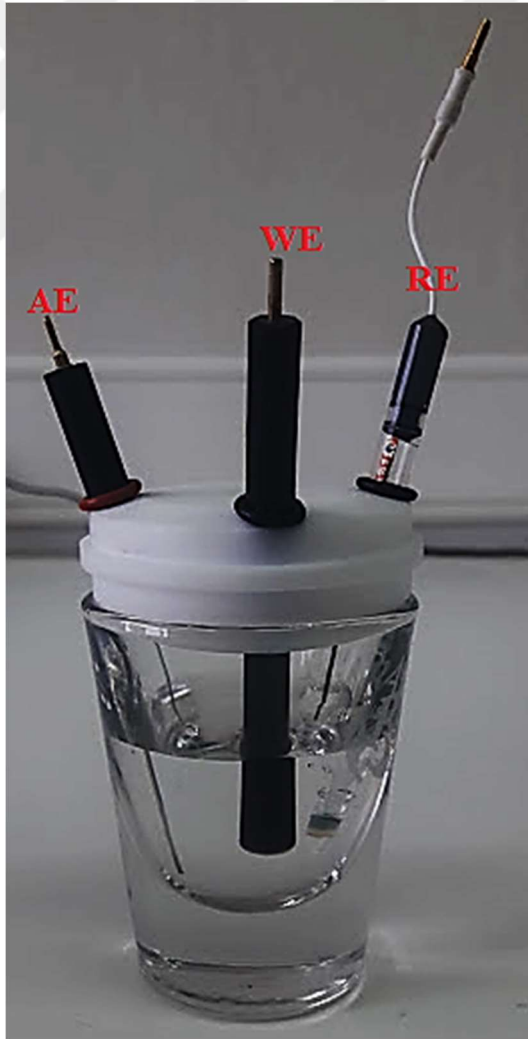


Şekil 2.1: Elektroanalitik tekniklerin sınıflandırılması.

#### 2.1.1. Voltametri

Voltametri terimi voltamperometreden türetilir ve akımın gerilimin bir fonksiyonu, yani elektrot potansiyeli olarak ölçüldüğünü ifade eder. Herhangi bir elektrokimyasal hücre iki elektrota ihtiyaç duyduğundan dolayı, eğer bu her iki elektrot da geçen akımın büyüklüğünü belirleyecek olursa, kesin analitik bilgi elde etmek imkansız olacaktır. Bu nedenle, geçen akımın sadece bir elektrot tarafından sınırlandırılması gerekir. Bu elektroda çalışma elektrodu, diğer elektroda da yardımcı elektrot denir. Bir

elektrokimyasal hücrenin çalışması için sadece iki elektrota ihtiyaç duyulmasına rağmen, üçüncü bir elektrotun devreye alınması çok önemlidir. Bu üçüncü elektrot bir referans elektrottur, yani bilinen ve sabit bir elektrot potansiyeline sahip olan ve ideal polarize olmayan bir elektrottur. Hiçbir akım bu elektrot üzerinden geçmemelidir, çünkü akımın geçmesi potansiyelini değiştirir. Referans elektrot, çalışma ve yardımcı elektrot arasındaki voltajı ölçerek çalışma elektrodunun potansiyelini kontrol etmek için kullanılır. Bir çalışma elektrodu (WE), bir yardımcı elektroda (AE) ve bir referans elektroda (RE) sahip hücreye üç elektrotlu hücre denir (Şekil 2.2). Çalışma elektrodunda, elektrolit/elektrot arayüzündeki potansiyel farkı, bir potansiyostat yardımıyla kontrol edilir. Çoğu potansiyostat, yardımcı ve çalışma elektrotları arasında bu gerilimi uygulayan, çalışma elektrodunun potansiyelinin sahip olması gereken değere tam olarak uyan bir geri besleme devresi kullanır. Voltametri, akımın elektrot potansiyelinin bir fonksiyonu olarak ölçüldüğü tüm teknikler için genel bir terimdir [43].

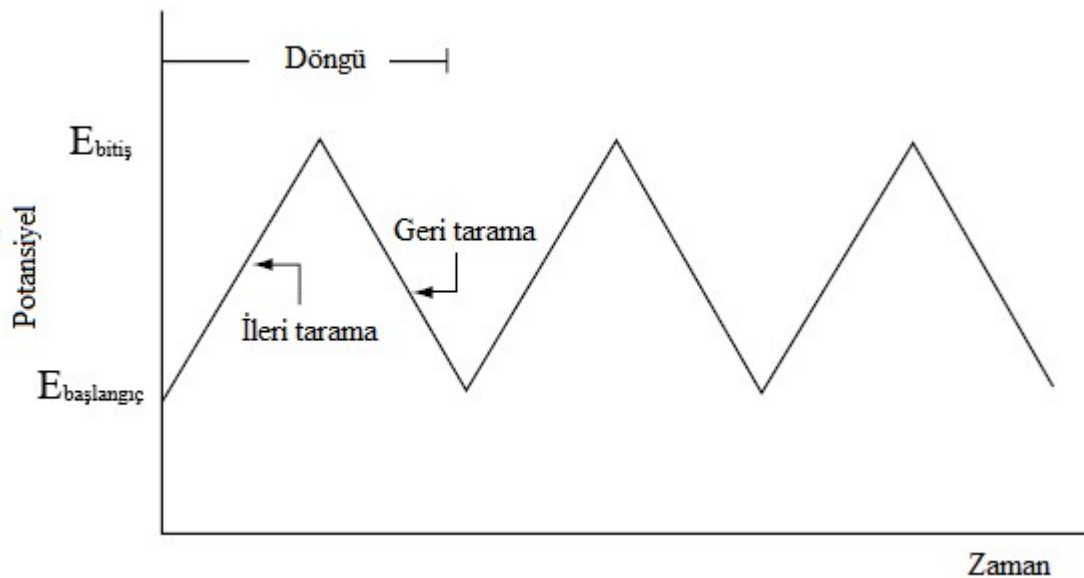


**Şekil 2.2:** Üç elektrotlu hücre.

## 2.1.2. Voltametrik teknikler

### 2.1.2.1. Dönüşümlü voltametri

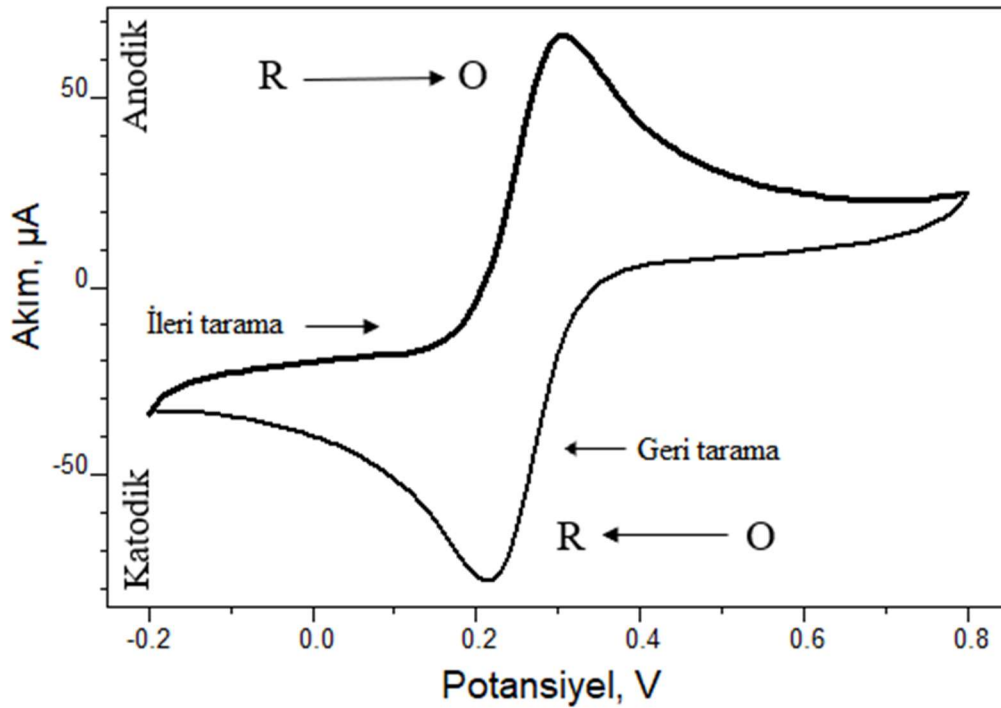
Dönüşümlü voltametri (CV), elektrokimyasal reaksiyonlar hakkında nitel bilgi elde etmek için çok yaygın olarak kullanılan bir tekniktir. CV'nin gücü, redoks işlemlerinin termodinamiği, heterojen elektron transfer reaksiyonlarının kinetiği ve birleştirilmiş kimyasal reaksiyonlar veya adsorpsiyon süreçleri hakkında hızlı bir şekilde önemli bilgiler sağlama yeteneğinden kaynaklanmaktadır. CV genellikle elektroanalitik bir çalışmada kullanılan ilk tekniktir. Özellikle, elektroaktif türlerin redoks potansiyellerinin hızlı bir şekilde belirlenmesini ve değerlendirilmesini sağlar. CV veri kümesinde çeşitli pikler görülür, her pik belirli bir elektrokimyasal işleme karşılık gelir ve pikin yüksekliği analitin konsantrasyonu ile ilişkilidir. CV, kimyasal reaksiyonların mekanizmasını, kinetiğini ve termodinamiğini incelemek için kullanılır. Hem elektrot yüzeyinde meydana gelen heterojen reaksiyonlar hem de çözeltideki homojen reaksiyonlar CV ile incelenebilir. CV, sabit bir WE'nin potansiyelini üçgen bir potansiyel dalga formu kullanarak doğrusal olarak taramaktan oluşur (Şekil 2.3).



Şekil 2.3: CV' de potansiyel-zaman uyarı sinyali.

İstenen bilgiye bağlı olarak, çoklu veya tekli döngüler kullanılabilir. Potansiyel tarama esnasında, potansiyostat uygulanan potansiyelden kaynaklanan akımı ölçer. Ortaya çıkan akım-potansiyel grafiğine döngüsel bir voltamogram denir. Bu voltamogram, çok sayıda kimyasal ve fiziksel parametrenin, zamana bağlı bir fonksiyonudur. Şekil 2.4, tek bir

potansiyel döngü sırasında geri dönüşümlü bir redoks çiftinin beklenen yanıtını göstermektedir. Başlangıçta sadece indirgenmiş (R) formunun bulunduğu varsayılmaktadır. Bu nedenle, ilk yarım döngü için, bir değerden başlayarak pozitif değere doğru giden bir potansiyel tarama seçilir. Uygulanan potansiyel redoks işlemi için karakteristik  $E^\circ$  değerine yaklaştıkça, bir zirveye ulaşılan kadar anodik akım artmaya başlar. Yükseltgenme işleminin gerçekleştiği potansiyel bölgeyi geçtikten sonra (zirvenin ötesinde en az  $90/n$  mV), potansiyel süpürmenin yönü tersine çevrilir. Ters tarama sırasında, yükseltgenmiş (O) molekülleri (ileri yarım döngüde üretilen ve yüzeye yakın bir yerde biriktirilen) tekrar R'ye indirgenir, bu da katodik bir pikin oluşmasına neden olur.



Şekil 2.4: CV voltamogramı.

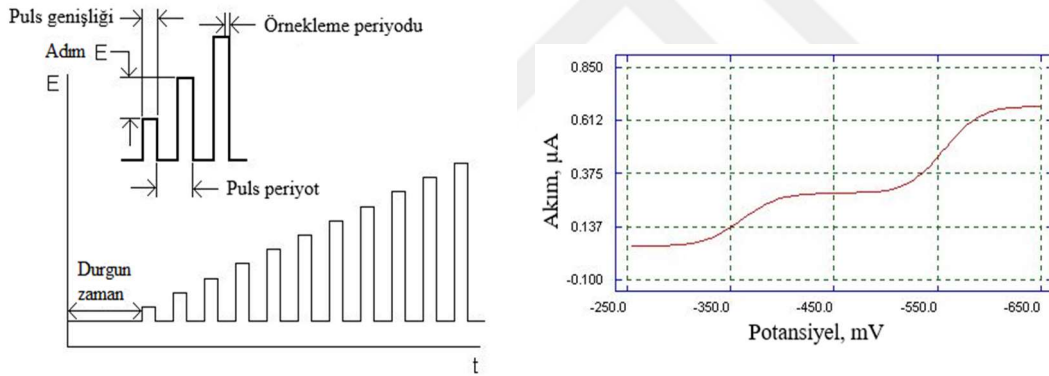
Bir tepkimenin tersinir olup olmadığı CV yöntemi ile belirlenebilir. Hem ileri hem de ters yönde potansiyel taraması yapılabilir. İleri ve ters yöndeki tarama sonucunda pikin gözlenmesi; elektrot yüzeyinde gerçekleşen reaksiyonun tersinir olduğunun göstergesidir. Tersinir bir elektrot tepkimesinde anodik ve katodik pik potansiyeli arasında  $(0.059/n)$  V'luk bir potansiyel farkı olmalıdır. Anodik ve katodik pik akımının bir birine eşit olması ileri yöndeki tarama esnasında oluşan ürünün kimyasal olarak kararlı olduğunun göstergesidir. Katodik pik akımının anodik pik akımından küçük olması

ürünün kararlı olmadığının göstergesidir. Genellikle, CV yöntemi kantitatif analiz için kullanılmazken kalitatif analizler için sık kullanılan bir tekniktir [44].

### 2.1.2.2. Normal puls voltametrisi

Normal puls voltametrisinde (NPV) potansiyel taranırken elektroda genlikleri gittikçe artan pulslar uygulanır. Ancak, pulslar arasında potansiyel sabittir. Potansiyel bir başlangıç potansiyel ( $E_i$ )'den darbelendir. Darbe süresi ( $t$ ) genellikle 1 ila 100 milisaniye (ms) dir ve darbeler arasındaki aralık tipik olarak 0.1 ila 5 saniyedir. Ortaya çıkan voltammogram, dikey ekseninde örneklenen akımı ve darbenin yatay ekseninde basamaklanma potansiyelini görüntüler. Darbeler arasında elektrot, analitin reaksiyonunun meydana gelmediği sabit bir potansiyelde tutulur. Akım, darbe uygulandıktan yaklaşık 40 ms sonra ölçülür, bu sırada şarj akımının katkısı neredeyse sıfırdır. Bu kısa darbe süresi nedeniyle, difüzyon tabakası daha incedir ve buna bağlı olarak faradaik akımda artma gerçekleşir (Şekil 2.5).

NPV,  $10^{-6}$ - $10^{-7}$  M konsantrasyon aralığında ölçüm yapılmasına izin verir.

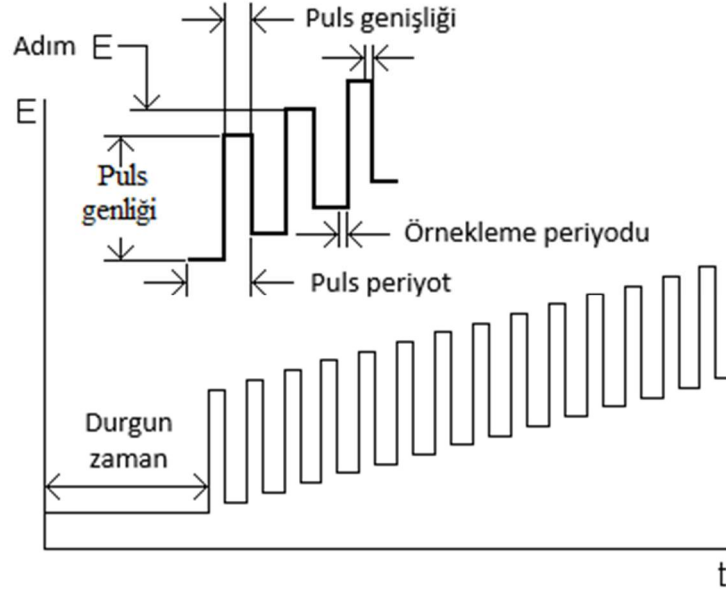


Şekil 2.5: NPV'de potansiyel dalga formu ve akım-potansiyel eğrisi [45].

### 2.1.2.3. Diferansiyel puls voltametrisi

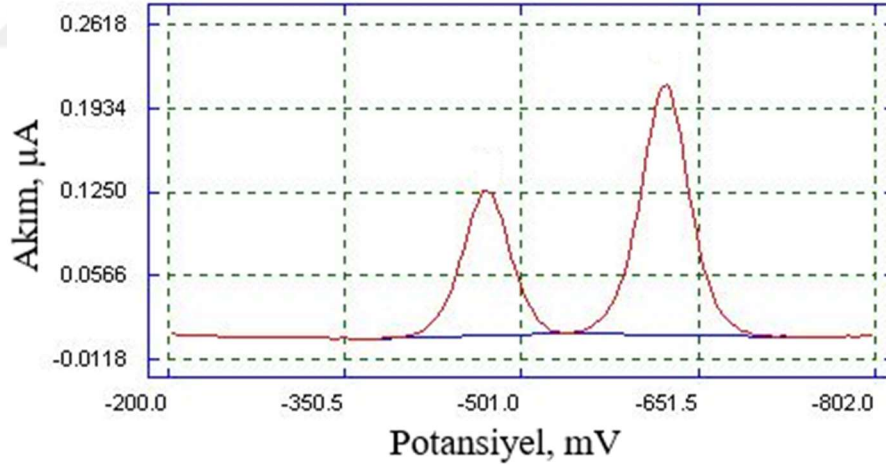
DPV, inorganik ve organik türlerin eser seviyelerini ölçmek için son derece kullanışlı bir tekniktir. Akım, pulstan önce ve pulsun sonuna doğru iki kere ölçülür. İlk akım enstrümantal olarak ikinci akımdan çıkarılır ve aradaki akım farkı  $[\Delta i = i(t_2) - i(t_1)]$  uygulanan potansiyele karşı çizilir. Elde edilen diferansiyel puls voltamogramı, yüksekliği ilgili analitlerin konsantrasyonu ile doğru orantılı olan akım piklerinden oluşur. DPV tekniğinin avantajı, akımın örneklendiği noktalarda kapasitif akımın minimum olmasıdır. Bu nedenle sinyal/gürültü oranı iyileştirilmiş olup,  $10^{-7}$ - $10^{-8}$  M'ye

kadar düşük konsantrasyonlarda ölçüm yapılmasına izin verir. DPV'ye ait potansiyel dalga formu şekil 2.6'da yer almaktadır.



**Şekil 2.6:** Diferansiyel puls voltametrisinde potansiyel dalga formu [45].

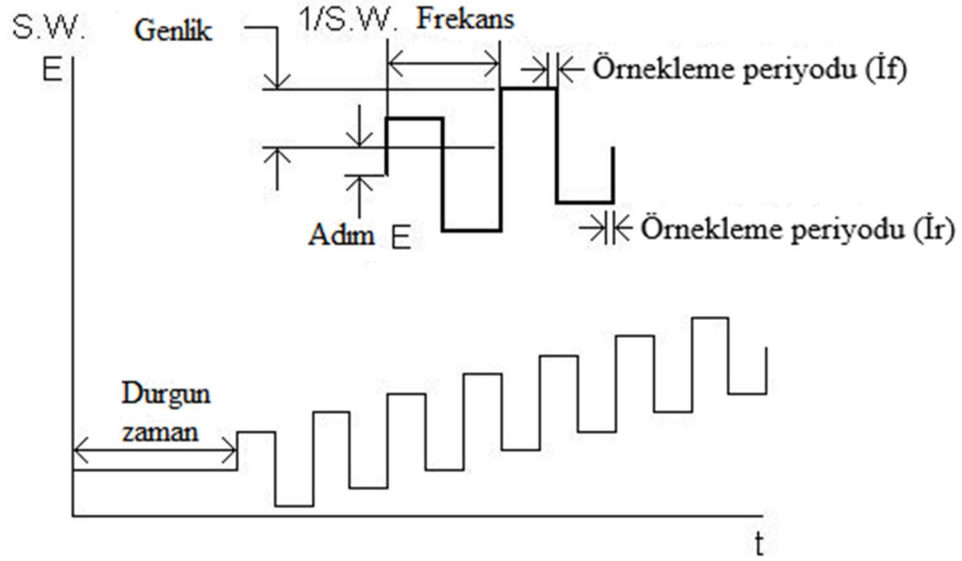
DPV' ye ait akım-potansiyel eğrisi şekil 2.7'de görüldüğü üzere simetriktr.



**Şekil 2.7:** DPV voltamogramı [45].

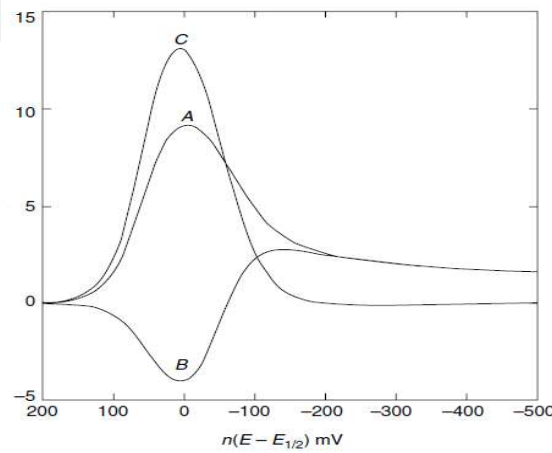
#### 2.1.2.4. Kare dalga voltametrisi

SWV, temel bir merdiven potansiyeli üzerine bindirilmiş simetrik bir kare dalgadan oluşan bir dalga formunun, çalışma elektroduna uygulandığı büyük genlikli diferansiyel bir tekniktir. SWV'ye ait potansiyel dalga formu şekil 2.8'de görülmektedir.



**Şekil 2.8:** Kare dalga voltametrisinde potansiyel dalga formu [45].

Akım, her bir dalga için ileri ( $i_f$ ) ve geri ( $i_r$ ) yöndeki pulsların sonlarına doğru ölçülür. Voltamogramda  $i_f$ ,  $i_r$  ve bunların farkı ( $i_{net}=i_f-i_r$ ) potansiyele karşı grafiğe geçirilir. Elde edilen pik şekilli voltamogram yarım dalga potansiyeli etrafında simetrik ve pik akımı konsantrasyonla orantılıdır (Şekil 2.9).



**Şekil 2.9:** Tersinir elektron transferi için kare dalga voltamogramı.

Mükemmel hassasiyet, net akımın ileri veya geri bileşenlerden daha büyük olmasından kaynaklanır. Duyarlılık, DPV'den daha yüksektir.  $10^{-10}$  M'ye yakın çok düşük algılama limitlerine ulaşılabilir. SWV'nin en büyük avantajı hızıdır. Yüksek tarama hızı  $f\Delta E_s$  formülü ile ifade edilir.  $f$  terimi kare dalga frekansıdır (Hz cinsinden) ve  $\Delta E_s$  adım yüksekliğidir. Saniyede 1-100 döngü frekansları, son derece hızlı potansiyel tarama hızlarının kullanılmasına izin verir. Örneğin,  $E_s=10$  mV ve  $f=50$  Hz ise, etkin tarama hızı

0,5 V/s' dir. Sonuç olarak, analiz süresi büyük ölçüde azalır; DPV'de yaklaşık 2-3 dakikada kaydedilen voltamogram, SWV'de birkaç saniye içinde kaydedilebilir.

SWV iki özelliği ile analitik tayinler için önem arz etmektedir. Bunlardan birincisi ileri ve geri yöndeki pulslar sırasında oluşan kapasitif akımlar, net akım hesaplanırken birbirini yok eder ve bu sayede tayin sınırı iyileşir. İkincisi ise oksijenin çözeltiden uzaklaştırılması gerekmez. Oksijenin yükseltgenme ve indirgenmesinden kaynaklanan akımlar, net akım hesaplanırken birbirini yok eder [44].

#### **2.1.2.5. Sıyırma analizi**

Özellikle iz düzeydeki eser metallerin analizi için kullanılan bir elektrokimyasal yöntemdir. Sıyırma analizi tüm elektroanalitik yöntemler içinde tayin sınırı en iyi olan yöntemdir. Sıyırma analizi iki basamaklı bir tekniktir. Birinci basamakta çözelti sabit bir hızda karıştırılarak analit elektrot üzerinde indirgenerek veya yükseltgenerek biriktirilir. Birinci basamaktan sonra çözeltinin durgunlaşması için kısa bir süre beklenir ve LSV, DPV veya SWV tekniklerinden bir tanesi ile potansiyel taraması yapılarak elektrot yüzeyinde indirgenerek veya yükseltgenerek biriken analit sıyırılarak karakteristik voltamogramlar elde edilir.  $10^{-10}$ - $10^{-12}$  M'ye kadar düşük konsantrasyonlarda ölçüm yapılmasına izin verir. Anodik, katodik ve adsorptif sıyırma voltametrisi gibi türleri bulunmaktadır [44].

#### **2.1.3. Elektrokimyasal hücreler**

Potansiyel kontrollü deneylerde özellikle hücre direnci nispeten yüksek olduğunda, elektrokimyasal çalışmalarda çok sık kullanılan düzeneklerdir (Şekil 2.2). Hücre genellikle 5-25 mL hacimli pyrex, cam veya kuvarstan yapılmış kapalı bir beher şeklinde olup içerisinde bulunan numune çözeltisine daldırılan WE, RE ve AE'den oluşur. Bu düzenekte, WE'nin potansiyeli referans potansiyele göre izlenir; ancak, akım WE ile AE arasında geçer. WE, ilgili reaksiyonun meydana geldiği elektrotken, RE, çalışma elektrodunun potansiyelinin karşılaştırıldığı sabit ve tekrarlanabilir bir potansiyel sağlar. Numune çözeltisinin kontaminasyonunu en aza indirmek için, referans elektrot bir ara köprü yoluyla numuneden izole edilebilir. Platin tel veya grafit çubuk gibi inert bir iletken malzeme ise genellikle AE olarak kullanılır [44].

Tüm elektrokimyasal reaksiyonlar, genellikle hareketli ve akım akışını destekleyebilen çözünmüş iyonlar ve bir çözücü içeren ortamda gerçekleşir. Bu ortamında yer alan çözücü-elektrolit kombinasyonu (elektrolit) herhangi bir elektrokimyasal deney için



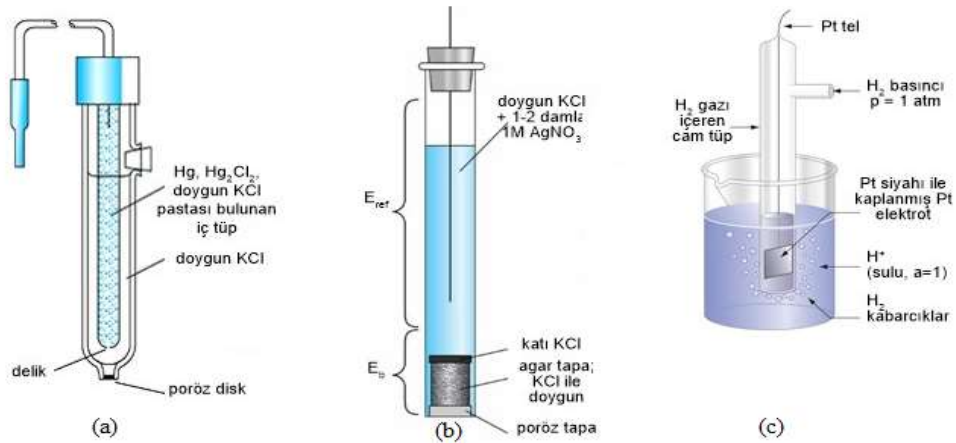
kritik öneme sahiptir. Hemen hemen tüm elektrokimyasal deneylerde gerekli olan hücre içindeki elektrot potansiyelinin kontrolünü ve/veya ölçülmesini sağlamak için bir elektrokimyasal hücredeki elektrotlar arasında hareketli iyonlar içeren bir ortam bulunmalıdır. Tepkime maddelerini ve ürünleri elektrot reaksiyonundan çözmek için iyi çözme gücüne sahip bir ortam gereklidir ve tepkime maddelerinin ve ürünlerin elektrotlara ve elektrotlardan hızlı bir şekilde taşınmasını sağlamak için genellikle makul bir şekilde düşük viskoziteye sahip olan bir ortama ihtiyaç duyulur [46].

#### 2.1.4. Elektrokimyada kullanılan elektrotlar

Elektrokimyada RE, WE ve AE olmak üzere 3 farklı elektrot kullanılmaktadır.

##### 2.1.4.1. Referans elektrot

İyi bir RE bileşimi, WE potansiyelinin kontrollü regülasyonu için kararlı bir potansiyel sağlamak amacıyla, deney süresince değişmeden etkili bir şekilde sabit kalmalıdır. Seçilen RE ideal bir polarize edilemeyen elektrot olmalıdır, yani RE'den geçen akım akışına bakılmaksızın potansiyeli değişmemelidir. RE'deki reaksiyon, Nernst denkleminde hesaplanabilecek bir potansiyelin yanı sıra mevcut bir gerilimden sonra potansiyelini geri kazanma kapasitesine izin verecek şekilde geri dönüşümlü olmalıdır. RE'nin, deney süresi boyunca potansiyelinde bir değişiklik göstermeden, potansiyostat veya galvanostat tasarımındaki kusurlardan dolayı ani küçük bir akımın geçişiyle değişmeyen bir potansiyele sahip olması gerekir. Voltametri tekniklerinde kullanılan, çok çeşitli referans elektrot türü mevcut olup en çok kullanılanları; gümüş-gümüş klorür elektrot ( $\text{Ag}/\text{AgCl}$ ) doymun kalomel elektrot (DKE), ve standart hidrojen elektrotudur (SHE). Şekil 2.10'da voltametrde yaygın olarak kullanılan RE'ler görülmektedir [47].



Şekil 2.10: Referans elektrotlar (a) DKE, (b)  $\text{Ag}/\text{AgCl}$ , (c) SHE.

#### ➤ **Doygun kalomel elektrot**

DKE en popüler referans elektrottur. Çok istikrarlı ve sağlam bir yapıya sahiptir. Civa (Hg), Kalomel ( $\text{Hg}_2\text{Cl}_2$ ) ve Potasyum klorür (KCl) çözeltisinden oluşur. Bu hücrenin potansiyeli klorür konsantrasyonu ile değiştiğinden bu değerin elektrot tanımında belirtilmesi gerekir. Sıvı bağlantılı DKE'nin, SHE' ye karşı 25  $^{\circ}\text{C}$  deki potansiyeli 0.244 Volt (V) dur.

#### ➤ **Gümüş/Gümüş klorür elektrot**

Ag/AgCl referans elektrodun yapısı DKE'den daha basittir ve civa içermez. Çok kararlı bir referans elektrottur. Ag/AgCl elektrot doygun potasyum klorür veya doygun sodyum klorür çözeltisiyle hazırlanmıştır ve SHE'ye karşı 25  $^{\circ}\text{C}$  deki potansiyeli 0.197 V'dur.

#### ➤ **Standart hidrojen elektrot**

SHE, potansiyeli ile standart elektrokimyasal indirgeme potansiyelleri için standart referans noktasıdır, potansiyeli tüm sıcaklıklarda 0.00 V olarak tanımlanmıştır. SHE, hidrojen iyonu aktivitesi 1 ve hidrojen gazının kısmi basıncı 1 atmosfer olan; veya, potansiyeli her sıcaklıkta tam olarak sıfır olan elektrot, şeklinde de tanımlanır. SHE'nin hazırlaması zor ve kullanımı elverişsiz olduğu için yaygın olarak kullanılan bir elektrot değildir.

#### **2.1.4.2. Çalışma elektrodu**

Voltametrik tekniklerin performansı, çalışma elektrot malzemesinden önemli derecede etkilenir. Çalışma elektrodu, yüksek sinyal/gürültü özellikleri ve tekrarlanabilir bir yanıt sağlamalıdır. Bu nedenle, seçimi öncelikle iki faktöre bağlıdır; bunlar hedef analitin redoks davranışı ve ölçüm için gerekli potansiyel aralığına sahip olmasıdır. Bu iki faktörün haricinde çalışma elektrodunun iletkenliği, yüzey tekrarlanabilirliği, mekanik özellikleri, maliyeti ve bulunabilirliği de çalışma elektrodunun seçiminde göz önünde bulundurulacak hususlardandır. Bir çok malzeme, elektroanaliz için çalışma elektrodu olarak kullanılmıştır. En yaygın olanları karbon, civa veya soy metalleri (özellikle platin ve altın) içerenlerdir. Voltametri de çalışma elektrotu olarak platin (Pt) ve altın (Au) gibi metal elektrotlar ve GCE yaygın olarak kullanılmaktadır.

#### ➤ **Metal elektrotlar**

Metal elektrot olarak kullanılan çok çeşitli soy metaller bulunurken, platin ve altın en çok kullanılan metal elektrotlardır. Bu elektrotlar çok uygun elektron transfer kinetiği ve geniş

bir anodik potansiyel aralığı sunar. Daha şiddetli olan, yüzey oksit veya adsorbe edilmiş hidrojen katmanlarının oluşumu yüksek arka plan akımlarının oluşumuna neden olur. Bu tür filmler ayrıca elektrot reaksiyonunun kinetiğini güçlü bir şekilde değiştirebilir ve bu da yeniden üretilemez verilere yol açabilir. Au elektrotlara kıyasla, Pt olanlar daha inerttir ve bu nedenle kararlı oksit filmlerin oluşumuna veya yüzey kontaminasyonuna daha az eğilimlidir [44].

Metal çalışma elektrotu kullanılmadan önce elektrot yüzeyinin mekanik olarak temizlenmesi gerekir. Mekanik temizleme işleminde; su zımparası ile küçük bir aşındırma ile temiz, pürüzsüz ve homojen yüzey elde edilmeye çalışılır. Mekanik temizleme sırasında yüzey morfolojisinin değişmemesine özen gösterilmelidir. Zımpara işleminden sonra parlatma işlemine geçilmelidir. Parlatma işleminde elmas parlaticısı kullanılır.

#### ➤ Karbon elektrotlar

Karbon bazlı katı elektrotlar, günümüzde öncelikle geniş potansiyel aralığı, düşük arka plan akımı, zengin yüzey kimyası, düşük maliyet, kimyasal inertlik ve çeşitli algılama ve algılama uygulamaları için uygunluğu nedeniyle elektroanalizde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla beraber, karbon yüzeylerde gözlenen elektron transfer hızları genellikle metal elektrotlarda gözlenenden daha yavaştır. Elektron transfer reaktivitesi, karbon yüzeyinin kökeni ve geçmişinden büyük ölçüde etkilenir. Tüm yaygın karbon elektrot malzemeleri, altı üyeli aromatik bir halkanın ve  $sp^2$  bağının temel yapısını paylaşıyor, yüzeylerindeki kenar ve bazal düzlemlerin nispi yoğunluğunda farklılık gösterir. Kenar oryantasyonu elektron transferi ve adsorpsiyonuna yönelik grafit bazal düzlemden daha reaktiftir. Farklı kenar/bazal düzlem oranlarına sahip malzemeler böylece belirli bir redoks analiti için farklı elektron transfer kinetiği sergiler. En popüler karbon elektrot türleri, GCE ve CPE dir [44].

#### • Camsı karbon elektrotlar

GCE, mükemmel elektriksel ve mekanik özellikleri, geniş potansiyel aralığı, kimyasal inertliği ve nispeten tekrarlanabilir performans sergilemesi dolayısıyla çok yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Camsı karbonun yapısı, çapraz bağlı grafit benzeri tabakaların ince, karışık şeritlerini içerir. Yüzey ön temizliği genellikle aktif ve tekrarlanabilir sonuçlar elde edebilmek için ve elektrodun analitik performansını arttırmak için kullanılır. Böyle bir ön işlem genellikle ardarda daha küçük alümina parçacıkları (0.05

um'ye kadar) ile parlatılarak yapılır. Daha sonra elektrot kullanılmadan önce deiyonize su ile durulanmalıdır. Performansını arttırmak için elektrokimyasal veya kimyasal yöntemler ile tamamen yüzeyi temizlenmelidir. Geliştirilmiş elektron transfer kapasitesi, yüzey kontaminantlarının uzaklaştırılması, taze karbon kenarlarının ortaya çıkması ve yüzey oksijen gruplarının (yüzeyler arası yüzey aracılığı olarak görev yapan) yoğunluğundaki bir artışa bağlanmıştır. GCE'nin en önemli dezavantajı GCE'lerin hiç biri diğer GCE ile eşdeğer değildir. Ayrıca yüksek akım yoğunluğunda yeniden kristalizasyonun bir sonucu olarak yüzeyi pürüzlenebilmektedir [44].

- **Karbon pasta elektrot**

Çeşitli su ile karışmayan ve iletken olmayan organik bağlayıcılarla (yapıştırma sıvıları) karıştırılmış grafit tozu kullanılarak oluşturulan CPE'ler, kolayca yenilenebilir ve modifiye edilmiş bir yüzey, düşük maliyet ve çok düşük arkaplan akımı özellikleri ile öne çıkmaktadır. Yapıştırma sıvısı olarak Nujol (mineral yağ), parafin yağı, silikon yağı ve bromo naftalin kullanılır. Macun bileşimi elektrot reaktivitesini güçlü bir şekilde etkiler, yapışan sıvı içeriğindeki artış elektron transfer oranlarını ve arka plan akım katkılarını azaltır. Artan popüleritesine rağmen, CPE'lerin kesin davranışı tam olarak anlaşılamamıştır. CPE'lerin dezavantajı, organik bağlayıcının, kayda değer miktarda organik çözücü içeren çözeltilerde çözülme eğilimidir [44].

#### **2.1.4.3. Karşıt elektrot**

AE aynı zamanda yardımcı elektrot olarak da tanımlanmaktadır. Bu elektrot; WE ile RE arasında düzgün ve doğrusal bir elektriksel alan oluşumuna imkan sağlar. Akım sınırlayıcı etkisinin olmaması için AE'nin yüzey alanı WE'nin yüzey alanından çok daha büyük olması gerekir. AE' nin yapısında akım taşıma amacıyla inert bir iletken malzeme kullanılır. Bu malzeme genellikle platin (levha, tel, ve spiral şekilde tel) veya grafit çubuk olur.

#### **2.1.5. Kimyasal olarak modifiye edilmiş elektrotlar**

Kimyasal olarak modifiye edilmiş elektrotlar (CME); modifiye edilmiş yüzeye reaktifin davranışını kazandırmak için yüzeye bir reaktifin yerleştirilmesi sistemine dayanır. Elektrot yüzeylerinin bu şekilde modifiye edilmesi, birçok elektroanalitik problemin çözümüne katkı sağlayabilir, yeni analitik uygulamalar ve farklı algılama cihazlarının temelini oluşturabilir. Elektrotların moleküler reaktiflerle bu tür yüzey

fonksiyonelleştirilmesi, elektrokimyasal sentez, enerji dönüşümü ve mikroelektronik cihazlarla birlikte başka uygulama alanlarında da kullanılmasına imkan tanımıştır. CME'lerin analitik uygulamalara fayda sağlayabileceği farklı yönler vardır. Bunlar elektron transfer reaksiyonlarının hızlanmasını, tercihli birikimi veya seçici membran geçirgenliğini içerir. Bu tür adımlar elektrokimyasal cihazlarda hassasiyet, yüksek seçicilik veya stabilite kazandırabilir. Elektrokromik görüntüleme cihazları, ilaçların kontrollü salınımı, elektrosentez, yakıt hücreleri ve korozyon koruması gibi diğer birçok önemli uygulamada da elektrot yüzeylerinin rasyonel tasarımından faydalanılmaktadır. Bir modifiye edicinin yüzeye dahil edilmesine yönelik en yaygın yaklaşımlardan biri, uygun bir polimer film ile yüzeyin kaplanmasıdır. Polimer modifiye edilmiş elektrotlar genellikle, çözülmüş polimeri ihtiva eden bir çözelti damlacıklarının yüzeye dökülmesi ve çözücünün buharlaşmasına izin verilmesi [48-50], daldırma veya döndürerek kaplamalar yoluyla veya çözülmüş monomerin varlığında elektropolimerizasyon yoluyla hazırlanır [51]. İkinci yöntem, film kalınlığının (ve genellikle morfolojinin) hassas bir şekilde kontrol edilmesini sağlar. Örneğin, nafion, polivinilferrosen, polivinilpiridin ve polipirrol ilgi çekici permselektif, iyon değişimi ve kirlenme önleyici özellikleri nedeniyle elektrot değiştirici olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Ayrıca iki (veya daha fazla) polimerin karışık veya çok katmanlı bir konfigürasyonda birleştirilmesiyle ilave avantajlar elde edilebilir. Diğer önemli modifikasyon türleri, kompozit karbon materyallerinin toplu modifikasyonu, kovalent (kimyasal) bağlanma, sol-jel kapsülleme, fiziksel adsorpsiyon ve spontan kemisorpsiyondur [44].

#### **2.1.6. Elektrokimyasal polimerizasyon yöntemi ile modifiye edilmiş elektrotlar**

Elektrokimyasal polimerizasyon (ECP), polimerizasyon reaksiyonu işlemi sırasında katot veya anotta elektrokimyasal yöntemlerin uygulanmasını belirtir. Polimerizasyon yöntemi yeni bir akım veya potansiyel kontrol faktörü sağlar, bu nedenle gelişiminin başlangıcında kısa süreç ve düşük maliyet gibi bazı önemli avantajları bulunmaktadır. Film kalınlığı ve bileşimi, elektrokimyasal işlem sırasında elektrokimyasal parametrelerin kontrol edilmesiyle kolayca elde edilebilir. Ek olarak, elektrokimyasal polimerizasyon, temiz üretim amacına ulaşmak için çok sayıda uçucu organik çözücünün kullanılmasını önlemek için ham monomeri doğrudan substrat filmi üzerinde toplayabilir. Bu mükemmel özellikler nedeniyle, elektropolimerizasyon yöntemi basit tasarım, yüksek kararlılık, hızlı tepki ve gelişmiş seçicilik özellikleri ile gelecek vad etmektedir.

Polimerizasyon, birçok küçük monomerden büyük moleküllerin oluşturulduğu bir reaksiyondur. Normalde katı koşullar altında dikkatle kontrol edilmesi gereken bir süreçtir. Son zamanlarda, avantajları nedeniyle filmlerin kontrol edilebilir bir şekilde hazırlanması için elektropolimerizasyon yöntemi başarıyla kullanılmaktadır. Farklı monomerlerin polimerizasyonu için genellikle üç tip elektrokimyasal yöntem kullanılır. Bu yöntemler birincisi sabit bir akım (galvanostatik), ikincisi sabit bir potansiyel (potansiyostatik) ve üçüncüsü potansiyel tarama/döngü veya süpürme. Sensörlerin hazırlanması için iletken ve iletken olmayan farklı tipte polimer filmler kullanılmaktadır. İletken polimerler, metallere benzer elektronik özelliklere sahip fakat geleneksel organik polimerlerin özelliklerini koruyan çoklu konjüge yapılara sahiptir. Son yıllarda benzersiz karakterleri nedeniyle sensör alanlarında büyük ilgi görmüşlerdir. Polisiklik benzenoid, benzenoid olmayan hidrokarbonlar, asetilen gibi iletken polimerlerin hazırlanması için monomer olarak çok çeşitli organik moleküller (Poliasetilen, polianilin, polipirol, politiyofen, poli parafenilen, poli para fenilen vinilen, poli para fenilen etilen, polifloren, polikarbazol, poliindol) kullanılmıştır.

Elektropolimerizasyon yöntemi ile hazırlanan iletken olmayan filmler de önemlidir. Elde edilen iletken olmayan film genellikle küçük bir kalınlığa sahiptir ve elektrot üzerindeki büyümesi sırasında, elektrik direncindeki artışla kendi kendini kontrol eder. İletken olmayan polimerler her zaman ince olduğundan (10-100 nm), substratlar ve ürünler, film modifiye edilmiş elektrotlardan hızla ayrılabilir. Bu nedenle, iletken olmayan polimer esaslı elektrokimyasal sensörler için hızlı tepki süresi ve yüksek seçicilik beklenebilir. Çoğu durumda, fenol ve türevleri daima iletken olmayan filmlerin elektrokimyasal yöntemlerle sentezlenmesinde kullanılır [52].

#### **2.1.7. Kompozit materyaller ile modifiye edilmiş elektrotlar**

Tek başına kullanılan malzemelerden çok daha iyi özelliklere sahip olan en az iki veya daha çok malzemenin birleşimi sonucunda ortaya çıkan malzemeler kompozit olarak tanımlanır. Kompozit malzemeyi oluşturan malzemelerin her biri kendi fiziksel, mekanik ve kimyasal özelliklerini korumakla birlikte, daha iyi özellikler sergilemişlerdir. Kompozit malzemelerde, taşıyıcı olarak görev yapan bir takviye malzemesi ve bunları çevreleyip, saran ve bir arada tutan ve destekleyen bir matris fazdan oluşan iki grup bulunur. Ayrıca bu iki kısmın arasında da bir ara faz bulunur. Kompozit malzemeler tekstil, enerji, paketlenme endüstrisi gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Enerji endüstrisinde kullanılan polimer kompozitler, çevreye duyarlı, verimliliği yüksek

yenilenebilir enerji platformlarının üretilmesinde de kullanılabilir. Yeni nesil pil teknolojilerinde de nano yapıda malzemelerden faydalanılmaktadır. Kompozit materyallerin oluşturulmasında karbon temelli malzemeler çoğunlukla tercih edilir. Ayrıca iletken polimerlerin sentezi ve iletken polimerlerin kompozit olarak modifiye edilmesi bu alanda önemli bir gelişme olarak kabul edilmiştir.

## **2.2. Analitik Yöntemlerin Validasyonu**

Analitik yöntem validasyonu, kimyasal değerlendirmeyi yapmak için temel bir gerekliliktir. Metot validasyonu, bir analitik test sisteminin amacına uygun olduğunu, faydalı ve meşru analitik veriler sağlayabildiğini doğrulamak için tasarlanmış çok sayıda değerlendirme yapma prosedürüdür. Bir yöntem, her değiştirildiğinde ve yeni parametre çalışma aralığının dışında olduğunda yeniden doğrulanması gereklidir. Operasyon aralıkları, her bir yöntem için benzer yöntemlerle edinilen deneyime dayalı olarak açıkça tanımlanmalı veya yöntem geliştirmeleri sırasında araştırılmalıdır. Bu aralıklar yöntem validasyonu sırasında doğrulanmalı ve yöntem özelliklerinin bir parçası olmalıdır. Bu tür çalışma aralıklarının bulunması, bir yöntemin ne zaman yeniden doğrulanması gerektiğine karar vermeyi kolaylaştırır. Örnek matrisi değişirse, alet tipi değişirse yeniden doğrulama gereklidir. Metot validasyonu için seçicilik/özgünlük, duyarlık, kesinlik/kararlılık, doğrusallık, aralık, tayin sınırı (LOD) ve kantitasyon tayin sınırı (LOQ) gibi parametreler kontrol edilir [53-54].

### **2.2.1. Seçicilik/özgünlük**

Analitik bir yöntemin seçiciliği, bir analitin numune matrisinde bulunması beklenen interferanslar varlığında doğru bir şekilde ölçülebilmesidir.

### **2.2.2. Kesinlik/kararlılık**

Bir yöntemin kararlılığı; prosedür birden çok numuneye tekrar tekrar uygulandığında bireysel test sonuçları arasındaki uyum derecesidir. Hassasiyet, bir dizi standart enjekte edilerek veya homojen bir lottan çok sayıda örneklemden alınan bir dizi numune analiz edilerek ölçülür. Tekrarüretilebilirlik ve tekrarlanabilirlik olmak üzere iki genel kararlılık ölçümü bulunmaktadır. Kararlılık kantitatif analizlerde standart sapma (S) ve bağıl standart sapma (RSD) değeriyle ifade edilebilir. RSD, standart sapmanın ortalama değere ( $\bar{x}$ ) bölünmesidir. Eşitlik 2.1 kullanılarak hesaplanır.

$$RSD = \frac{s}{\bar{x}} \quad (2.1)$$

**Tekrarlanabilirlik;** Aynı araştırmacı, aynı laboratuvar, aynı gün ve aynı cihaz ile 2-3 farklı derişimle 5-6 paralel ölçüm yapılır. Elde edilen sonuçların RSD değerleri kıyaslanır.

**Tekrarüretilebilirlik;** aynı metot kullanılarak eşdeğer numunelerde, farklı analist tarafından, farklı ekipman kullanılarak ve farklı zaman dilimlerinde bağımsız test sonuçlarının elde edilmesi olarak tanımlanmıştır.

Birçok analit çözeltisi; hazırlanması, ekstraksiyonu ve hazırlanan şişelerin depolanması sırasında kolayca bozulabilir. Bu nedenle analitin kararlılığı araştırılmalıdır. Yöntemde, doğruluk testi için geçen süreye bağılı olarak, ekstraksiyondan sonra bir numunenin nihai analizden önce ne kadar süreyle saklanabileceğinden bahsetmek gerekir.

### 2.2.3. Doğruluk

Analitik bir yöntemin doğruluğu, yöntem tarafından üretilen test sonuçlarının gerçek değere uyma derecesidir. Analitik bir yöntemin doğruluğu aşağıdaki yollardan biriyle belirlenebilir:

- Bilinen konsantrasyondaki bir numuneyi analiz etmek ve ölçülen değeri “gerçek” değerle karşılaştırmak. Bununla birlikte, iyi karakterize edilmiş bir numune (örneğin referans standardı) kullanılmalıdır.
- Geri kazanım yöntemi; Bu yöntemde formülasyon matriksine bilinen bir miktarda saf aktif bileşen eklenir, elde edilen karışım analiz edilir ve elde edilen sonuçlar beklenen sonuç ile karşılaştırılır.
- Standart ekleme yöntemi; Bu yöntemde bir numune analiz edilir, bilinen bir miktarda saf aktif bileşen eklenir ve numune tekrar test edilir. İki testin sonuçları arasındaki fark beklenen cevapla karşılaştırılır.

Yukarıda belirtilen yöntemlerde, geri kazanım, gözlenen sonucun, yüzde olarak ifade edilen beklenen sonuca oranı olarak tanımlanır. Bir yöntemin doğruluğu, olası test değerleri aralığında değişebilir ve bu nedenle birkaç farklı takviye seviyesinde belirlenmelidir. Doğruluk, beklenen aralıkta en az 3 konsantrasyonu (% 80, 100 ve 120) kapsamalıdır. Doğruluk ayrıca, test sonuçlarının başka bir valide edilmiş test yöntemi kullanılarak elde edilenlerle karşılaştırılmasıyla da belirlenebilir.

Geri kazanım verimi herhangi bir laboratuvar örneği kullanılarak veya sertifikalı referans materyal kullanılarak gerçekleştirilebilir. Laboratuvar örneğinde aranan analitin var olup



olmadığı bilinmediğinden dolayı çalışmalarda orjinal örnek ve zenginleştirilmiş örnek her ikisi birlikte çalışılmalıdır.

Sertifikalı referans materyal kullanılarak yapılan ölçümlerde geri kazanım verimi eşitlik (2.2)' de verilen formül ile hesaplanır; (% geri kazanım verimi (%R), Sertifikalı referans materyallerin çalışılması sonucunda bulunan değer ( $Q_B$ ), Sertifikalı referans madde değeri ( $Q_{CRM}$ ))

$$\%R = \frac{Q_B}{Q_{CRM}} \times 100 \quad (2.2)$$

Laboratuvar örneğinin zenginleştirilmesi ile yapılan geri kazanım verimi çalışmasında eşitlik (2.3)' de verilen formül kullanılır; (Zenginleştirilmiş örnek sonucu ( $Q_Z$ ), Orjinal örnek sonucu ( $Q_O$ ), Zenginleştirme konsantrasyonu ( $Q_{ZK}$ ))

$$\%R = \frac{Q_Z - Q_O}{Q_{ZK}} \times 100 \quad (2.3)$$

#### 2.2.4. Doğrusallık

Analitik bir yöntemin doğrusallığı, belirli bir aralıktaki numunelerdeki analit konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak doğrudan (veya iyi tanımlanmış bir matematiksel dönüşümle) test sonuçlarını ortaya çıkarma yeteneğidir. Doğrusallık genellikle farklı analit konsantrasyonlarına sahip numunelerin analizi ile elde edilen test sonuçlarından belirlenmiş bir matematiksel ilişkiye göre hesaplanan regresyon çizgisinin eğimi etrafındaki varyans açısından ifade edilir. Çalışılan numune konsantrasyonu ve doğruluk açısından test edilen numuneler doğrusal aralıkta olmalıdır. Deneysel çalışma verilerinin doğrusal bir eğriye ne derece iyi uyduğunun en güzel ölçütü, regresyon analiz işleminde hesaplanmış korelasyon katsayısı ( $R^2$ ) dır.  $R^2$ 'nin 1 olması, deneysel verilerin kusursuz bir doğrusal eğri sağladığının kanıtıdır. Doğrusal eğride kullanılan veri noktasının fazlalığı,  $R^2$ 'nin güvenilirliğin yüksek olmasını sağlar.

#### 2.2.5. Aralık

Analitik bir yöntemin aralığı, analitin söz konusu yöntem kullanılarak duyarlık, doğruluk ve doğrusallık ile belirlendiği gösterilen üst ve alt seviyeleri (bu seviyeler dahil) arasındaki aralıktır.

#### 2.2.6. Tayin sınırı

Analitik bir prosedürün tayin sınırı (LOD), bir numunedeki saptanabilen, ancak zorunlu olarak nicelendirilemeyen en düşük miktardaki analittir. Bir analitin belirli bir değer

üstünde mi altında mı olduğunu belirten bir sınırdır. Enstrümantal prosedürlerin saptanması LOD' u, bilinen analit konsantrasyonu olan numunelerden elde edilen test sonuçlarını boş numunelerinki ile karşılaştırarak, analitin güvenilir bir şekilde tayin edilebileceği minimum seviye tespit edilir. Sinyal/gürültü oranı, baz pik noktasının, belirlenmiş bir eşik altındaki tüm veri noktalarının standart sapmasına bölünmesiyle belirlenir. Nicel ölçümler için bir kalibrasyon eğrisine dayanan spektroskopik teknikler veya diğer yöntemler için, IUPAC yaklaşımı ile LOD ile ilişkili olabilecek kesişimin standart sapması (S) ile kalibrasyon grafiğinin eğrisinin eğimi (m) kullanılarak eşitlik 2.4' deki formüle göre LOD hesaplanır.

$$LOD = \frac{3S}{m} \quad (2.4)$$

#### 2.2.7. Kantitatif tayin sınırı

Kantitasyon tayin sınırı (LOQ), bir numunedeki, yöntemin belirtilen çalışma koşulları altında kabul edilebilir doğruluk ve hassasiyetle belirlenebilen en düşük analit konsantrasyonudur. LOD gibi LOQ da konsantrasyon olarak ifade edilir, ayrıca ölçümün kararlılığı ve doğruluğu da raporlanır. Bazen LOQ' yu belirlemek için 10:1' lik bir sinyal-gürültü oranı kullanılır. Bilinen miktarlarda analit içeren örnekleri analiz ederek ve kabul edilebilir doğruluk ve kararlılık derecelerine ulaşılabilecek en düşük seviyeyi belirleyerek ölçülür. Son değerlendirme, bir enstrümantal okumaya, bir dizi boş (analit içermeyen ancak, diğer bütün bileşenleri içeren) numuneyi analiz ederek ve bu cevabın standart sapmasını hesaplayarak arka plan yanıtının büyüklüğüne dayanmaktadır. IUPAC yaklaşımı ile LOQ ile ilişkili olabilecek kesişimin standart sapması (S) ile kalibrasyon grafiğinin eğrisinin eğimi (m) kullanılarak eşitlik 2.5 deki formüle göre LOQ hesaplanır.

$$LOQ = \frac{10S}{m} \quad (2.5)$$

Çoğu durumda; LOQ, LOD'ün yaklaşık olarak üç katıdır.

### 3. MATERYAL ve METOD

#### 3.1. Kimyasal Maddeler

Deneyisel çalışmalarda kullanılan, GNS Biological Industries, SİP Acros organics'ten temin edilmiştir. Hidroklorik asit (HCl), sodyum sitrat ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ ), sitrik asit ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ ), asetik asit ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ), sodyum asetat ( $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$ ), borik asit ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ), fosforik asit ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ), potasyum klorür (KCl), sodyum hidroksit (NaOH), sodyum klorür (NaCl), sodyum hidrojen fosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ), potasyum dihidrojen fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), tris hidroklorik asit (Tris HCl), magnezyum klorür ( $\text{MgCl}_2$ ), kalsiyum klorür ( $\text{CaCl}_2$ ), tween 20, akrilik asit (AkrA), anilin (Ani), 4-vinilpiridin (4VP), 3-tiyofen karboksilik asit (3TCA), 3-metil tiyofen (3MTF), kafeik asit (KafA), p-Toluen sülfonik asit (pTSA),  $\beta$ -siklodekstrin ( $\beta\text{CD}$ ), klorojenik asit (KgeA), tereftalik asit (TrfA), 3-vinil fenil boronik asit (3VFBA), 4 Vinil benzoik asit (4VBeA), 2-tiyofen metanol (2TM), 2-5 dimetil furan (2-5DMF), alfalipoik asit (AlipA), asetonitril (AcN), sülfürik asit ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), nitrik asit ( $\text{HNO}_3$ ), Potasyum nitrat ( $\text{KNO}_3$ ), Potasyum ferrisiyanür ( $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ), Sodyum Perklorat ( $\text{NaClO}_4$ ) Sigma-Aldrich'den satın alınarak kullanılmıştır. Tüm kimyasal maddeler analitik saflıkta temin edilmiş olduğundan dolayı deneylerden önce herhangi bir saflaştırma işlemi gerçekleştirilmemiştir.

#### 3.2. Aygıt ve Gereçler

Tüm voltametrik deneyler, Ivium Vertex One marka potansiyostat cihazı kullanılarak yapılmıştır (Şekil 3.1). Bu cihaz hem veri toplama hem de veri analizi için kullanılan ve çok çeşitli elektrokimyasal teknikleri içeren IviumSoft <sup>TM</sup> yazılımı tarafından kontrol edilmiştir.



Şekil 3.1: Ivium Vertex One potansiyostat.

Voltametrizde kullanılan elektrotların daldırıldığı yaklaşık olarak 10-25 mL hacimli elektrokimyasal hücreler, şekil 3.2' de görülen ve Faraday kafesi gibi kullanılan, deney düzeneğini dış ortamdaki manyetik ve elektriksel etkilerden koruyan BAS marka C3 (cell stand) kafesi içerisine yerleştirilerek ölçümler gerçekleştirilmiştir.



**Şekil 3.2:** Elektrokimyasal hücre ve Cell stand.

Çözeltilerin homojen hale getirilmesinde ve elektrotların temizlenmesinde Branson marka 3510 model ultrasonik banyo kullanılmıştır. Hazırlanan tampon ve çözeltilerin pH ayarlamaları için Thermo Scientific STAR A-111 pH-metre kullanılmıştır. Deneylerden önce pH metrenin kalibrasyonu sırasıyla pH=7 (Merck 109439), pH=4.01 (Merck 109406) ve pH=10 (Merck 109409) tampon çözeltileri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kimyasal maddelerin tartımı Weightlab Instrument marka WSA-224 model terazi kullanılarak yapılmıştır. Kullanılan hücrelerin ve diğer cam malzemelerin temizliği önce deterjan ile yapılmış daha sonra deiyonize su ile çalkalanıp yaklaşık bir gece 6 M HNO<sub>3</sub> çözeltisinde bekletildikten sonra, ilk olarak distile su ile sonra ultra saf su ile çalkalanıp Nüve marka EN400 model etüvde kurutularak yapılmıştır. Çözeltilerin hazırlanmasında ve elektrotların temizlenmesinde Millipore Milli-Q Water Purification System ile artılan direnci 18.2 MΩ·cm @ 25 °C olan ultra saf su kullanılmıştır.

Deneylerde; referans elektrot olarak 3 M NaCl içindeki Ag/AgCl (BASi marka MF-2052 RE-5B) elektrodu, yardımcı elektrot olarak platin tel elektrot (BASi marka MW-1032) ve çalışma elektrodu olarak ise 3 mm çapında GCE (BASi marka MF-2012) kullanılmıştır.

### **3.3. Elektrotların Temizliği**

Referans elektrot her kullanımdan sonra ultra saf su ile yıkayıp 3 M NaCl çözeltisi içerisinde saklanmıştır. Yardımcı elektrot, organik kirliliklerin uzaklaştırılması amacıyla, belirli aralıklarla çıplak ateşte yakılıp ultra saf su ile yıkanarak temizlenmiştir. GCE mekaniksel olarak ayrı ayrı kadife diskler üzerine sırasıyla birkaç damla 1, 0.5 ve 0.05 µm tanecik boyutunda sulu alümina pastası damlatılıp elektrot "8" çizdirilecek şekilde fazla bastırılmadan 1-2 dakika hareket ettirilmiş, daha sonra elektrot 90° döndürülerek aynı işlem tekrarlanıp ardından ultra saf su ile yıkandıktan sonra, alümina kalıntılarının tamamen temizlenmesi için 1:1 oranındaki etil alkol:su çözeltisi içerisinde ultrasonik

banyoda 2 dakika bekletilerek temizlenmiştir. Daha sonra GCE 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> içerisinde (-0.7)-(1.7) V potansiyel aralığında CV yöntemi kullanılarak 5 döngü ile elektrokimyasal olarak temizlenmiştir.

### 3.4. Kullanılan Tampon Çözeltilerinin Hazırlanması

- **0.1 M Fosfat tampon çözeltisi (FT):** 0.0536 M dipotasyum hidrojen fosfat (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) ve 0.0464 M potasyum dihidrojen fosfat (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) alınıp ultra saf su ile istenilen hacme tamamlanarak hazırlandı [55].
- **0.1 M Asetat tampon çözeltisi (AsT):** 0.03 M asetik asit (CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H) ve 0.07 M sodyum asetat (C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>NaO<sub>2</sub>) alınıp ultra saf su ile istenilen hacme tamamlanarak hazırlandı [55].
- **0.1 M Tris tampon çözeltisi (TrsT):** 100 mM sodyum klorür (NaCl), 20 mM tris hidroklorik asit (Tris HCl), 2 mM magnezyum klorür (MgCl<sub>2</sub>), 5 mM potasyum klorür (KCl) , 1 mM kalsiyum klorür (CaCl<sub>2</sub>), 0.02 mM tween 20 alınıp ultra saf su ile istenilen hacme tamamlanarak hazırlandı [56].
- **0.1 M Britton-Robinson tampon çözeltisi (B-RT):** 0.04 M borik asit (H<sub>3</sub>BO<sub>4</sub>), 0.04 M asetik asit (CH<sub>3</sub>COOH) ve 0.04 M fosforik asit (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) alınıp ultra saf su ile istenilen hacme tamamlanarak hazırlandı [57].
- **0.1 M Sitrat tampon çözeltisi (SitT):** 0.06 M sitrik asit (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>) ve 0.04 M sodyum sitrat (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>Na<sub>3</sub>O<sub>7</sub>) alınıp ultra saf su ile istenilen hacme tamamlanarak hazırlandı [55].
- **0.1 M Fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBST):** 0.137 M sodyum klorür (NaCl), 0.0027 M potasyum klorür (KCl), 0.0018 M potasyum dihidrojen fosfat (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) ve 0.01 M disodyum fosfat (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) alınıp ultra saf su ile istenilen hacme tamamlanarak hazırlandı [55].
- **0.1 M Sitrat-fosfat (Mcilvaine) tampon çözeltisi (Sit-FT):** 0.102 M disodyum fosfat (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) ve 0.05 M sitrik asit (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>) alınıp ultra saf su ile istenilen hacme tamamlanarak hazırlandı [55].

### 3.5. Kullanılan Stok Çözeltilerinin Hazırlanması

- **Siprofloksasin stok çözeltisinin hazırlanması:** SİP stok çözeltileri değişik konsantrasyonlarda 0.1 M hidroklorik asit (HCl) içerisinde çözülerek hazırlandı

ve buzdolabında +4 °C’de saklandı. Kullanım esnasında SitT (pH=5) ile istenilen derişimlere seyreltilerek kullanıldı.

- **Gentamisin sülfat stok çözeltisinin hazırlanması:** GNS stok çözeltileri değişik konsantrasyonlarda ultra saf su içerisinde çözülerek hazırlandı ve buzdolabında +4 °C’de saklandı. Kullanım esnasında SitT (pH=2) ile istenilen derişimlere seyreltilerek kullanıldı.

### 3.6. Sentetik İdrar Çözeltisinin Hazırlanması

0.73 g sodyum klörür (NaCl), 0.40 g potasyum klörür (KCl), 0.28 g kalsiyum klörür ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), 0.56 g sodyum sülfat ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), 0.35 g potasyum dihidrojen fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), 0.25 g amonyum klorür ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) ve 6.25 g üre ( $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$ ) alınıp ultra saf su ile 250 mL’ ye tamamlanarak hazırlandı [58].

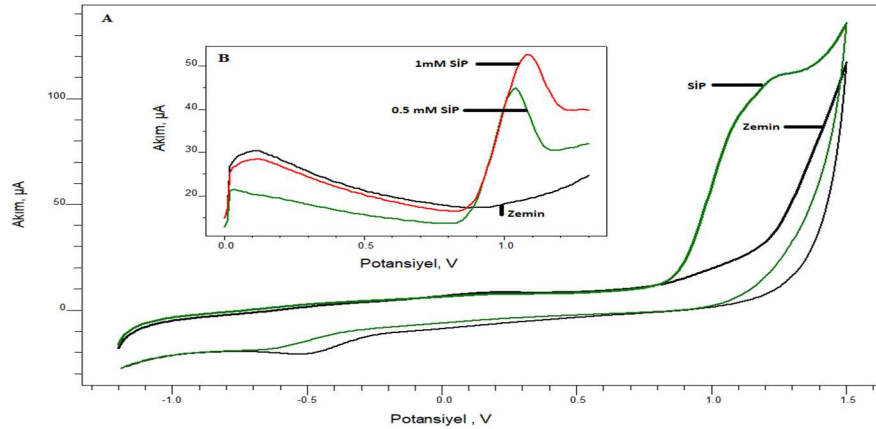
## 4. BULGULAR ve TARTIŞMA

### 4.1. Siprofloksasin Sensörü Hazırlanması

Tez kapsamında elektropolimerizasyon yöntemi kullanılarak SİP sensörü hazırlanmıştır. Bu yöntemde 2-Tiyofen metanol (2TM) monomeri kullanılarak GCE, CV metodu ile modifiye edilmiş ve modifiye elektrot üzerinde SİP' in elektrokimyasal davranışı SWV metodu ile incelenmiştir.

#### 4.1.1. SİP'in yükseltgenme/indirgenme potansiyelinin belirlenmesi

SİP'in yükseltgenme/indirgenme potansiyelini belirlemek için çıplak GCE, SitT (pH=5) (zemin çözeltisi) içerisine daldırılarak (-1.2)-(1.5) V potansiyel aralığında CV yöntemi ile bir döngülük ölçüm gerçekleştirilmiştir. Daha sonra kullanılan SitT içerisine SİP stok çözeltisinden ilave edilerek tekrar aynı potansiyel aralığında CV yöntemi ile ölçüm yapılmıştır. Yapılan ölçümler karşılaştırıldığında şekil 4.1(A)'daki CV sinyallerinde görüldüğü gibi SİP'in yaklaşık 1.1 V civarında geri dönüşümsüz bir şekilde yükseltgenme piki verdiği görülmüştür. Gözlenen piki daha belirgin bir şekilde görmek ve doğrulamak açısından çıplak GCE, SitT (pH=5) içerisine daldırılarak (0.0)-(1.5) V potansiyel aralığında SWV yöntemi kullanılarak ölçüm gerçekleştirilmiştir. Daha sonra SitT içerisine toplam konsantrasyonu 0.5 ve 1 mM olacak şekilde SİP ilave edilerek iki ölçüm daha yapılmıştır. Ölçümler sonucunda elde edilen voltamogramlar karşılaştırıldığında şekil 4.1(B)'deki SWV sinyallerinden de anlaşılabileceği gibi CV yöntemi ile tespit edilen 1.1 V civarında gözlenen yükseltgenme pikinin SİP'e ait olduğu ve artan konsantrasyonla beraber pik akımının arttığı görülmüştür.



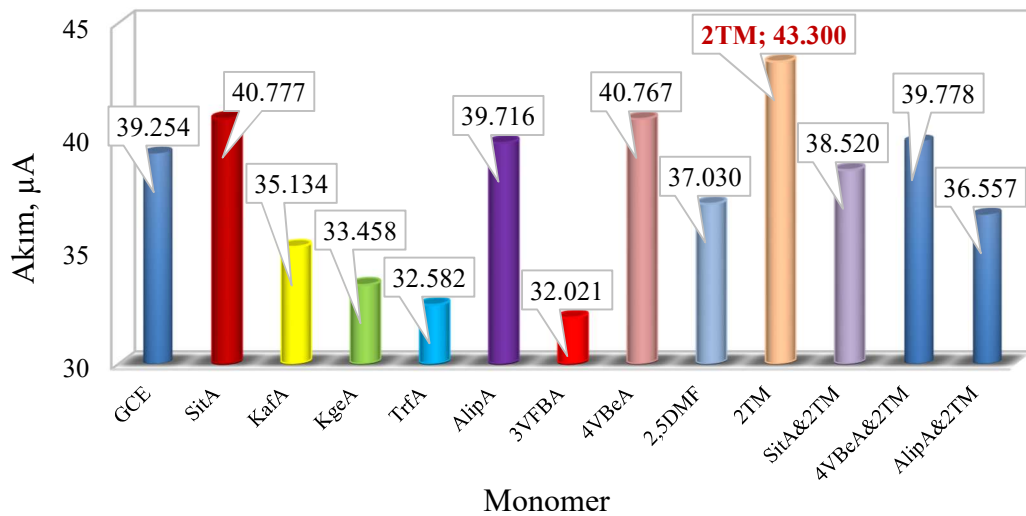
Şekil 4.1: SİP'e ait CV (A), SWV (B) voltamogramları.

#### 4.1.2. Elektrot modifikasyonu

SİP tayini için GCE elektropolimerizasyon yöntemi ile modifiye edilmiştir. Bu amaç için CV metodu kullanılarak farklı monomerler GCE yüzeyinde (-1.2)-(1.2) V potansiyel aralığında, 100 mV/s tarama hızında ve 2 döngü olacak şekilde biriktirilerek polimerleştirildikten sonra SWV akım sinyallerinin değerlendirilmesi sonucunda SİP'e en uygun monomer seçilmiş, elektrodun seçiciliğini ve duyarlılığını artırmak için de monomer derişimi, tarama hızı ve film kalınlığı gibi parametreler optimize edilerek elektrot modifiye edilmiştir.

##### 4.1.2.1. Monomer seçimi

SİP'e karşı en duyarlı olan monomeri belirlemek için; FT (pH=7.00) içerisinde; SitA, AlipA, KafA; 0.15 M asetik asit içerisinde KgeA; 0.1 M sodyum perklorat içeren AcN çözeltisi içerisinde TrfA, 3VFBA, 4VBeA, 2-5DMF, 2TM; 0.1 M sodyum perklorat içeren AcN:su (1:1) çözeltisi içerisinde; 4VBeA ko 2TM ve AlipA ko 2TM, SitA ko 2TM monomer çözeltileri hazırlanmıştır. Her birinin derişimi 5 mM olarak hazırlanan bu monomer çözeltileri ile CV yöntemi kullanılarak (-1.2)-(1.2) V potansiyel aralığında, (100 mV/s tarama hızında ve 2 döngü) GCE modifiye edilmiştir. Modifiye GCE'ler kullanılarak SWV yöntemi ile SİP' in elektrokimyasal davranışı incelenmiştir. Şekil 4.2'deki grafik incelendiğinde SİP için, kullanılmış olan 12 monomer /monomer karışımı içinde, en iyi yanıtı 2TM monomerinin verdiği görülmüştür. Bu nedenle çalışmanın bundan sonraki kısımlarında monomer olarak 2TM'nin kullanılmasına karar verilmiştir.

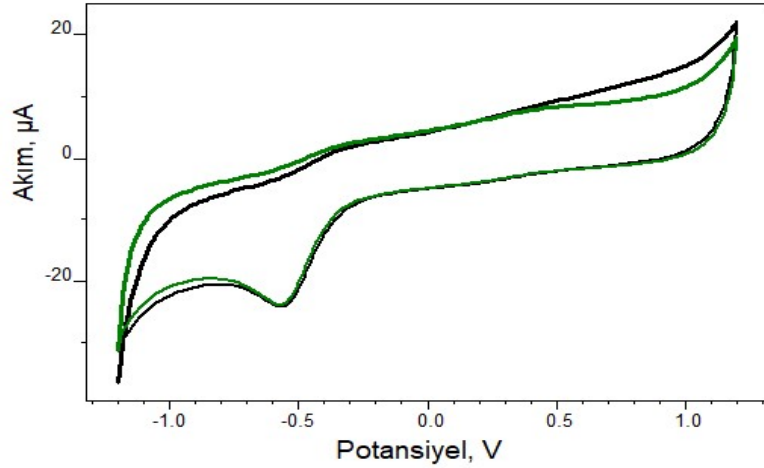


Şekil 4.2: SİP için monomer seçimi.



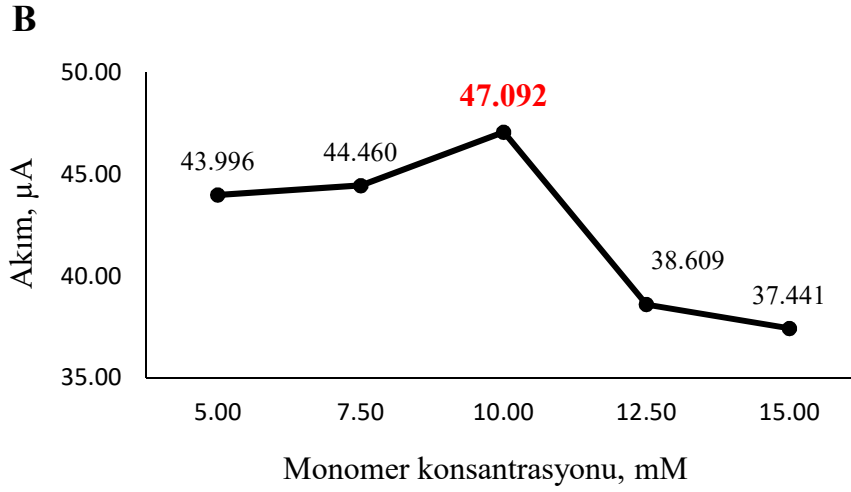
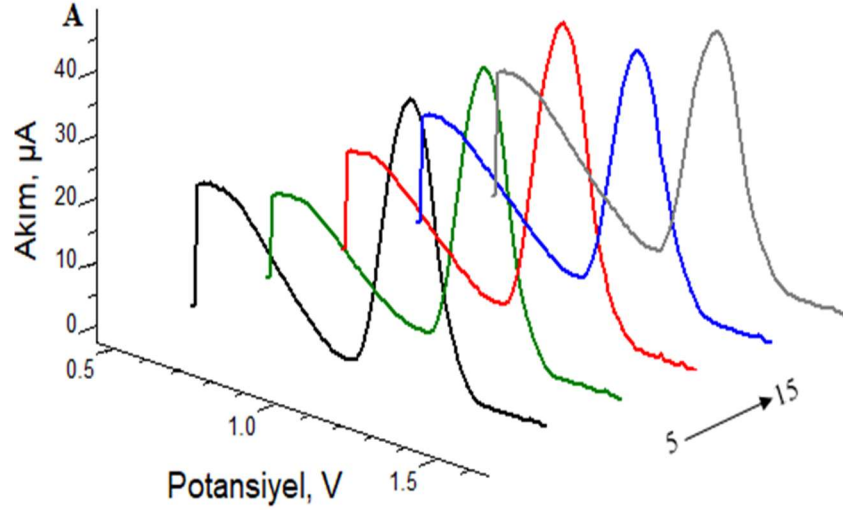
#### 4.1.2.2. Monomer konsantrasyonunun etkisi

Monomer olarak kullanılmasına karar verilen ve şekil 4.3’de polimerleşme voltamogramı görülen 2TM’nin derişiminin SWV yanıtı üzerine etkisini belirlemek üzere 5, 7.5, 10, 12.5 ve 15 mM konsantrasyonlarında monomer çözeltileri hazırlanarak CV metodu ile 100 mV/s tarama hızı ve 2 döngü deneysel koşullarında GCE modifiye edilmiştir.



**Şekil 4.3:** 2TM’nin polimerleşme voltamogramı.

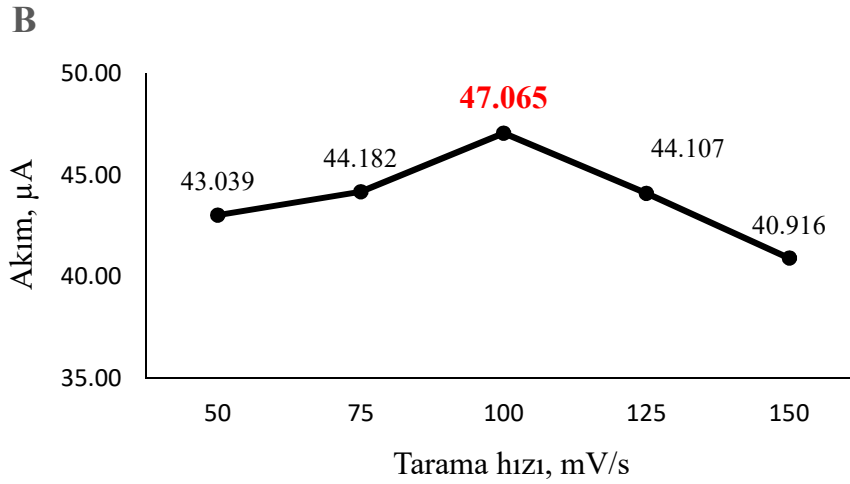
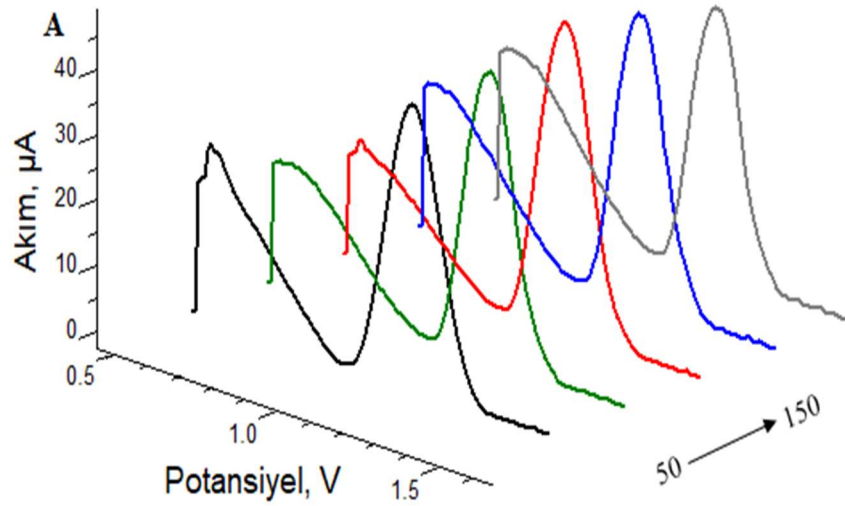
Modifiye edilen GCE’ler üzerinde SİP’in elektrokimyasal davranışı SWV metodu ile incelenmiştir. Şekil 4.4(A)’da yer alan voltamogramlar ve şekil 4.4(B)’de yer alan grafik incelendiğinde monomer konsantrasyonunun artışıyla beraber SİP’e ait pik akım değerinin 10 mM 2TM konsantrasyonuna kadar arttığı, 10 mM’den sonra küçülmeye başladığı görülmüştür. Konsantrasyon artışıyla beraber elektrot yüzeyinde daha fazla polimer birikmesinin, yani polimer filmin daha da kalınlaşmasının, pik akımının küçülmesine yol açtığı düşünülmektedir.



**Şekil 4.4:** 2TM monomer konsantrasyonunun SİP SWV pik akımına etkisi.

#### 4.1.2.3. CV tarama hızının etkisi

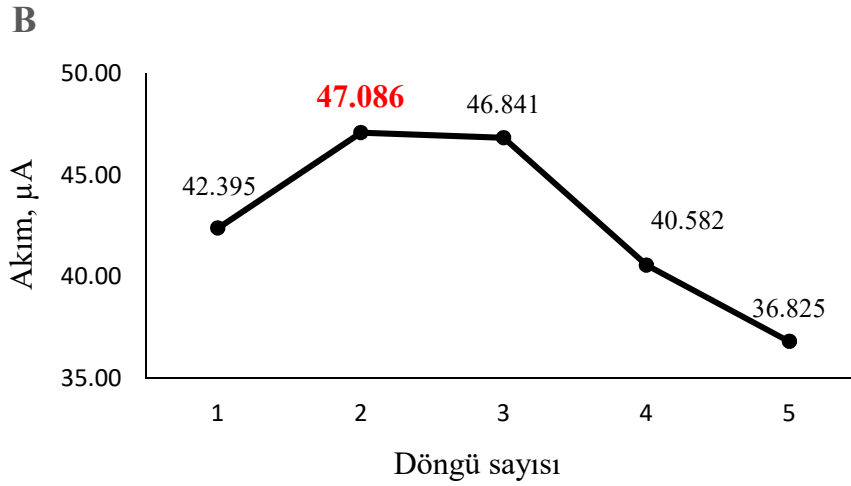
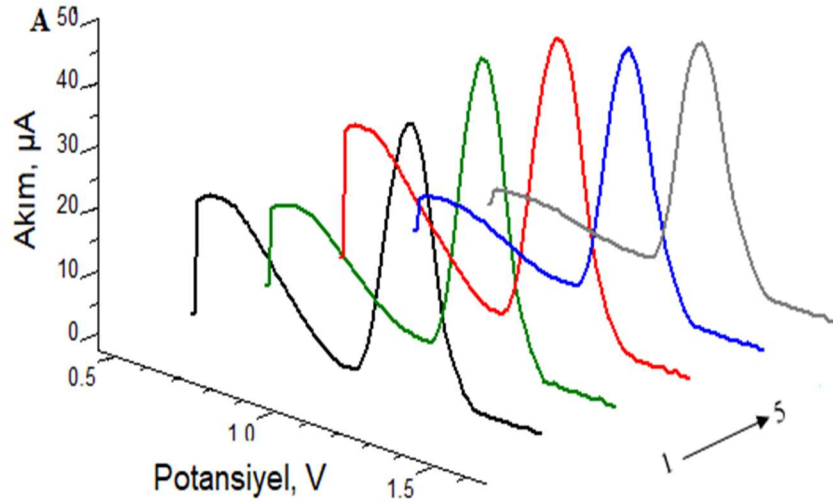
Tarama hızının etkisini belirlemek için 10 mM 2TM monomeri ile GCE yüzeyinde 50, 75, 100, 125 ve 150 mV/s, tarama hızlarında 2 döngüden oluşan filmler oluşturulmuştur. Modifiye edilen elektrotlar ile SİP'in elektrokimyasal davranışı SWV metodu ile incelenmiş olup şekil 4.5(A)'da yer alan voltamogramlar ve şekil 4.5(B)'deki grafiğin incelenmesi sonucundan da görülebileceği gibi en iyi pik akımı 100 mV/s tarama hızı ile oluşturulan film ile elde edilmiştir.



**Şekil 4.5:** CV Tarama hızının SİP SWV pik akımına etkisi.

#### 4.1.2.4. Film kalınlığının etkisi

Film kalınlığının etkisi CV yönteminde döngü sayısı değiştirilerek araştırılmıştır. Bu işlem için CV metodu ile 1, 2, 3, 4 ve 5 döngülük filmler oluşturularak GCE modifiye edilmiştir. Modifiye edilen elektrotların SİP' in elektrokimyasal davranışı üzerine etkisi SWV yöntemi ile incelenmiş olup şekil 4.6(A)' da yer alan voltamogramlar ve şekil 4.6(B)' deki grafiğin incelenmesi sonucunda da görülebileceği gibi en iyi pik akımı 2 döngülük film ile elde edilmiştir. 3. döngüden sonra modifiye edilen elektrot yüzeyinde film kalınlaşmış ve bunun sonucu olarak da pik akımı azalmıştır.



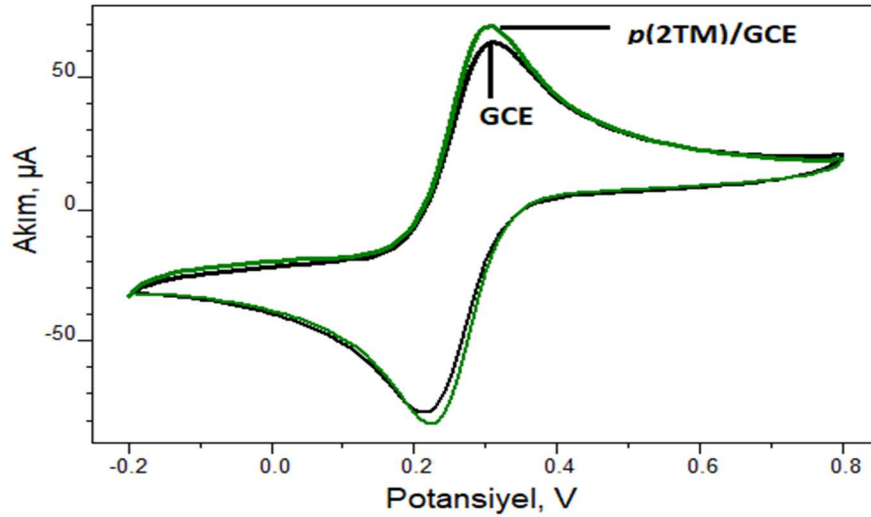
**Şekil 4.6:** Film kalınlığının SİP SWV pik akımına etkisi.

#### 4.1.3. Elektrokatalitik aktivite

Çıplak GCE ve 2TM ile modifiye edilen GCE ( $p(2TM)/GCE$ )'nin CV metodu ile (-0.2)-(0.8) V potansiyel aralığında 1 M  $KNO_3$  içinde 6 mM  $K_3[Fe(CN)_6]$ 'nın elektrokimyasal yanıtına ait voltamogramlar şekil 4.7'de ve bu voltamogramlardaki pik akımları çizelge 4.1' de gösterilmiştir. Çizelgedeki pik akımlarından da anlaşılabacağı gibi  $p(2TM)/GCE$ , çıplak GCE'ye göre daha iyi bir elektrokatalitik aktivite sergilemiştir.

**Çizelge 4-1:** GCE ve  $p(2TM)/GCE$ 'nin elektrokatalitik aktivitesine ait pik akımları

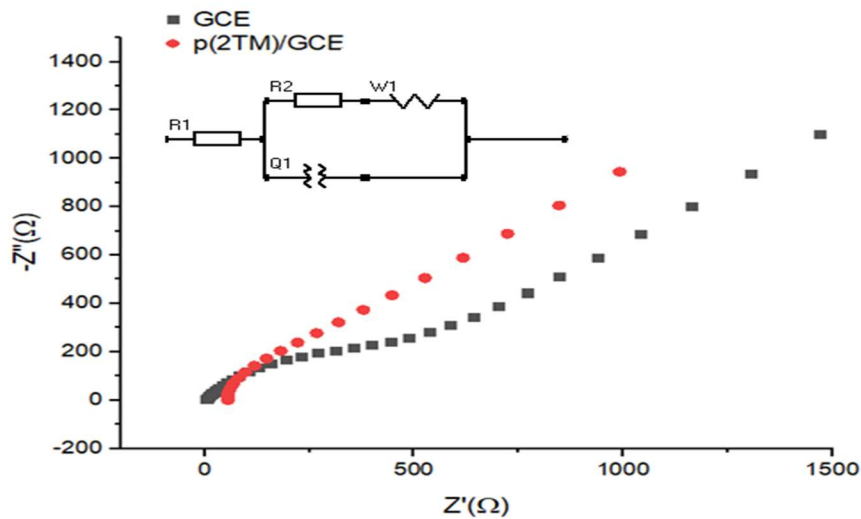
| Elektrot     | Yükseltgenme   |           | İndirgenme     |           |
|--------------|----------------|-----------|----------------|-----------|
|              | Potansiyel (V) | Akım (µA) | Potansiyel (V) | Akım (µA) |
| GCE          | 0.31           | 70.240    | 0.21           | 31.790    |
| $p(2TM)/GCE$ | 0.31           | 75.313    | 0.22           | 37.528    |



Şekil 4.7:  $p(2TM)/GCE$  elektrokatalitik aktivitesi.

#### 4.1.4. Empedans ölçümleri

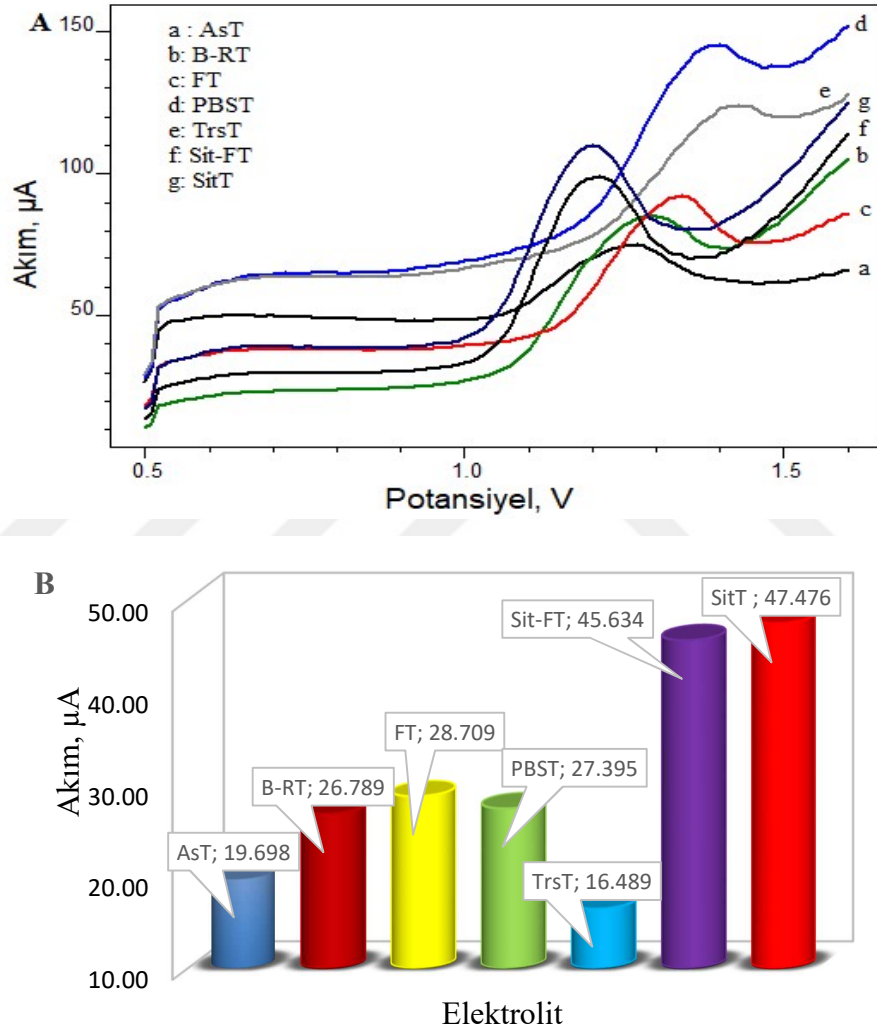
Elektrokimyasal empedans (EIS), modifiye elektrot yüzeyinin arayüzey özelliklerini gözlemlemek için etkili bir yöntemdir. Çıplak ve modifiye edilmiş GCE'lerin elektrokimyasal empedans spektrumu 6 mM ferrisiyanür içeren 1 M  $KNO_3$  çözeltisi içinde kaydedilmiştir. EIS' de yüksek frekanstaki yarım daire elektron transfer direncine eşdeğerdir ve daha düşük frekanslardaki düz çizgi difüzyon işlemine karşılık gelir. Elde edilen sonuçlar şekil 4.8'de gösterilmiştir. Şekil 4.8 üzerinde yer alan devre, çıplak ve modifiye edilmiş GCE'lerden elde edilen verileri deneme için kullanılan Randles eşitliği devre modelini temsil eder.  $p(2TM)/GCE$ , elektrot yüzeyinde yüksek iletkenliği ve hızlı elektron iletkenliği bakımından çıplak GCE ile karşılaştırıldığında, modifiye edilmiş elektrotta geliştirilmiş elektron transferine bağlı olan küçük bir yarım daire sergilenmiştir.



Şekil 4.8: GCE ve  $p(2TM)/GCE$  empedans ölçümleri.

#### 4.1.5. Destek Elektrolit Etkisi

Her biri 0.1 M ve pH'ı 5.00 olan AsT, B-RT, FT, PBST, TrsT, Sit-FT ve SitT çözeltileri içerisinde 0.5 mM konsantrasyonunda SİP stok çözeltisinden ilave edilmiştir. Hazırlanan bu çözeltiler kullanılarak *p*(2TM)/GCE ile SWV yöntemi kullanılarak voltamogramlar alınmıştır. Ölçümler sonucunda elde edilen ve şekil 4.9(A)'da yer alan voltamogramlar ve şekil 4.9(B)'deki bar grafiğın incelenmesinden de anlaşılacağı gibi SİP en iyi elektrokimyasal davranışı SitT içerisinde sergilemiştir.



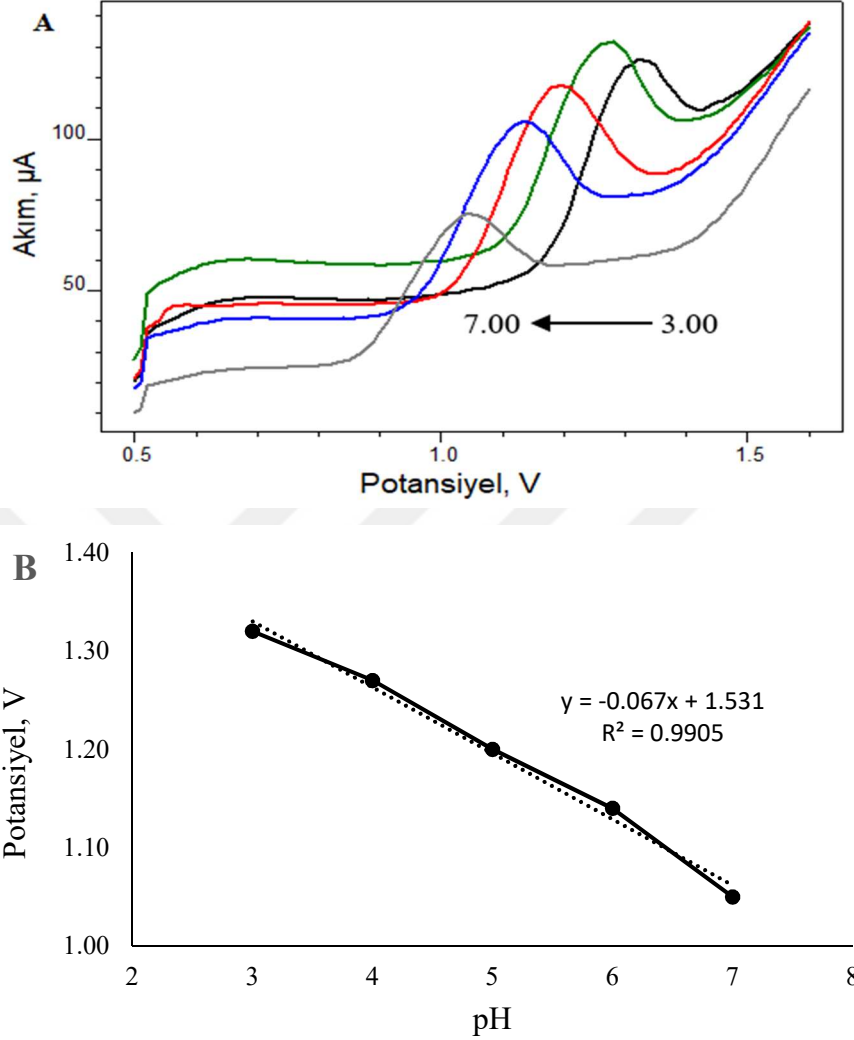
Şekil 4.9: Elektrolit türünün SİP SWV pik akımına etkisi.

#### 4.1.6. Destek elektrolitin pH etkisi

Destek elektrolitin pH değeri, analiz edilen maddelerin elektrokimyasal davranışını etkileyen önemli bir faktördür. Bu nedenle SİP'in en iyi elektrokimyasal davranış sergilediği SitT'nin pH'sının pik potansiyeli ( $E_p$ ) üzerindeki etkisi 3.00-7.00 aralığında araştırılmıştır. Artan pH ile, SWV pik potansiyeli şekil 4.10(A)'da görüldüğü gibi negatif

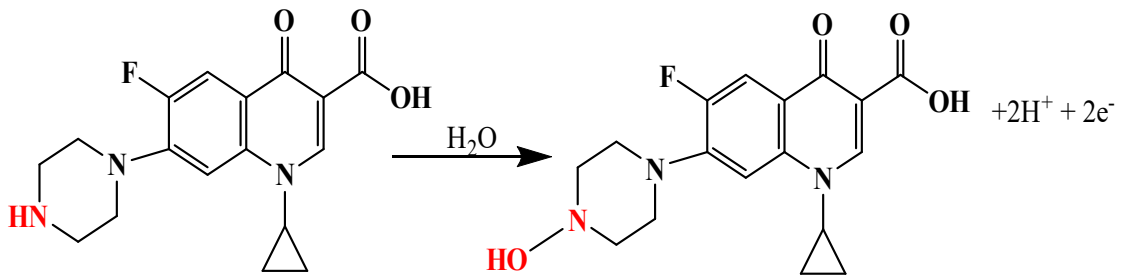
değerlere doğru kaymıştır. Şekil 4.10(B)'de yer alan pik potansiyeli ve pH arasındaki ilişki doğrusaldır ve eşitlik (4.1)'deki gibi formüle edilebilir.

$$E_p = 1.531 - 0.067 \text{ pH} \quad (R^2 = 0.9905) \quad (4.1)$$



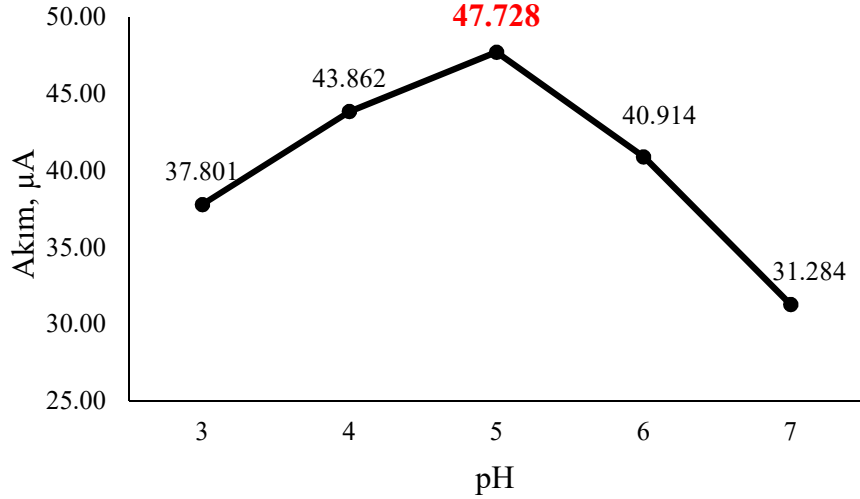
Şekil 4.10: SİP SW voltamogramı (A), pH-potansiyel grafiği (B).

pH-Potansiyel grafiğinin eğimi olan 67 mV, *p*(2TM)/GCE' nin SİP'in eşit proton ve elektron oksidasyon sürecine karşılık gelen teorik Nernst eşitliğindeki 59 mV değerine yakındır. Önerilen oksidasyon mekanizmasına ait şema Şekil 4.11'de gösterilmiştir [26].



Şekil 4.11: SİP yükseltgenme mekanizması.

Daha sonra, 3.00-7.00 aralığındaki pH'nın, SWV pik akımı ( $I_p$ ) üzerine olan etkisi de araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlardan, pik akımının pH 5.00'de maksimum değere ulaştığı ve daha sonra tekrar azalmaya başladığı görülmüştür (Şekil 4.12). Bu sonuçlar doğrultusunda SİP'in en iyi elektrokimyasal davranışını elde etmek açısından çalışmanın bundan sonraki kısımlarında, pH'sı 5.00 olan SitT'nin kullanılmasına karar verilmiştir.



Şekil 4.12: pH-SİP SWV pik akımı ilişkisi.

#### 4.1.7. SWV analiz parametrelerinin etkisi

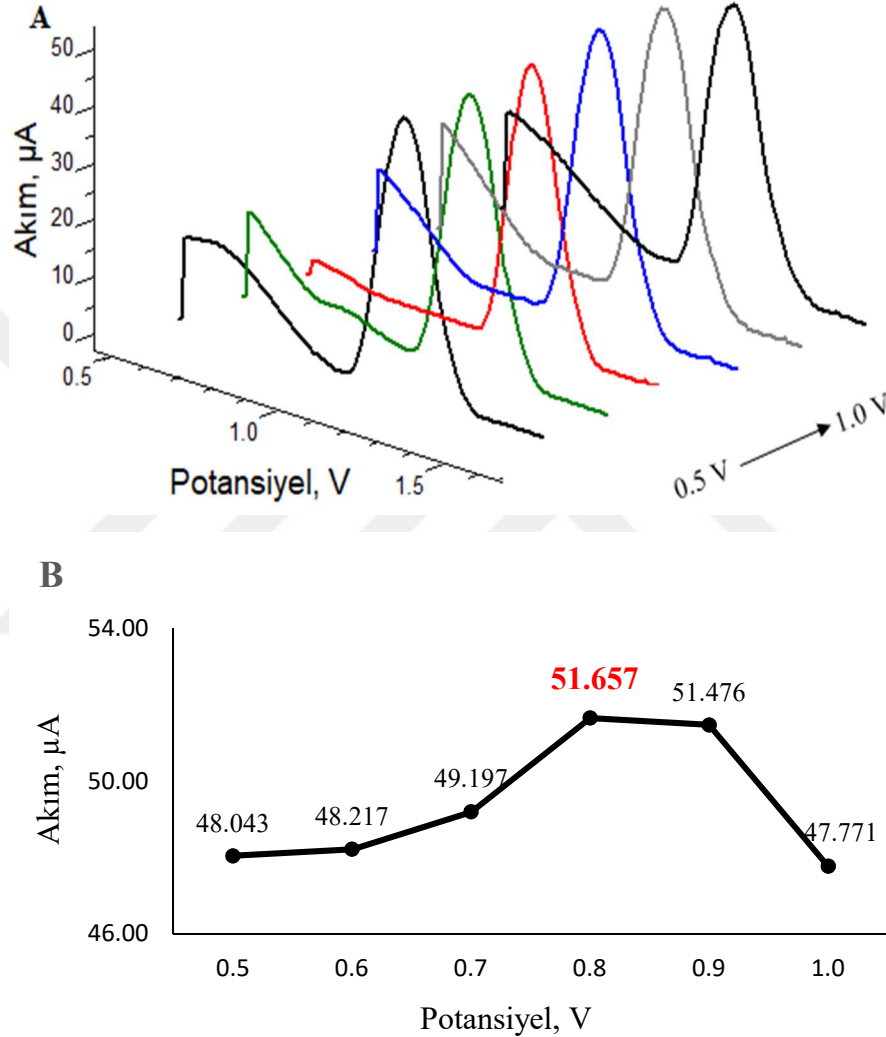
Analitin mevcut yanıtını etkileyebilecek SWV parametrelerinin optimizasyonu, voltametrik prosedürün genişletilmesinde önemli bir adımdır. Bu nedenle, bu çalışmada biriktirme potansiyeli, sıyırma potansiyeli, biriktirme süresi ve puls genliği gibi parametreler optimize edilmiştir.

##### 4.1.7.1. Biriktirme potansiyelinin etkisi

Çalışmanın bu aşamaya kadar olan kısımlarında SWV yöntemi kullanılmıştır. Bu aşamadan itibaren biriktirme potansiyeli, sıyırma potansiyeli ve biriktirme süresinin etkisini incelemek üzere SWV yönteminin uzantısı olan birikim basamağı dışında SWV yöntemi ile aynı olan kare dalga sıyırma voltametri (SWSV) yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde biriktirme adımı, analit elektrot üzerine biriktirilir ve biriken analit daha sonra hızlıca elektrottan sıyırılır. Elektrot üzerinde biriken analit, elektrokimyasal reaksiyon için mevcut analit kütlesini artırır, akımlar daha yükselir, bu nedenle duyarlılığı önemli ölçüde düşer. Daha düşük seviyelerde tayin yapabilmek açısından bu özelliğin kullanılması önem arz etmektedir. Bu yöntemde biriktirme potansiyelinin etkisini incelemek için 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 ve 1.0 V potansiyellerinde 10 saniye süre ile



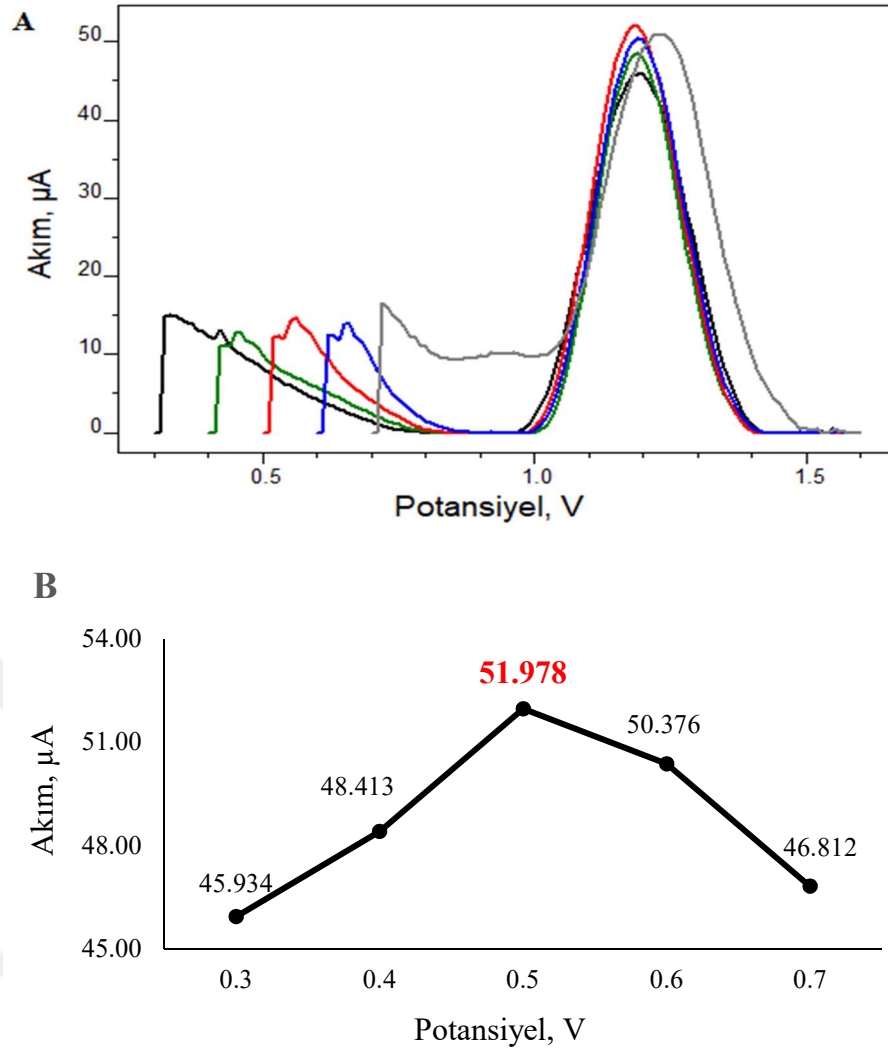
biriktirme işlemi gerçekleştirilerek ve 0.5 V potansiyelde sıyrılarak ölçümler yapılmıştır. Yapılan ölçümlere ait voltamogramlar şekil 4.13(A)'da ve ölçüm sonuçlarını ifade eden grafik şekil 4.13(B)'de yer almaktadır. Söz konusu voltamogram ve grafikte de görüldüğü gibi biriktirme işleminin SİP'in elektrokimyasal davranışı üzerine büyük etkisi olmuştur. Farklı potansiyellerde yapılan biriktirme işlemlerinden ise 0.8 V potansiyelde yapılan biriktirme SİP için en iyi yanıt sergilemiştir.



**Şekil 4.13:** Biriktirme potansiyelinin SİP SWSV pik akımına etkisi.

#### 4.1.7.2. Sıyırma potansiyelinin etkisi

Sıyırma potansiyelinin etkisini belirlemek için *p*(2TM)/GCE üzerinde 0.8 V potansiyelde 10 saniye biriktirilen SİP; 0.3, 0.4, 0.5, 0.6 ve 0.7 V potansiyellerinde sıyrılarak SİP'in elektrokimyasal davranışı incelenmiştir. Şekil 4.14(A)'da verilen voltamogramlar ve sonuçları ifade eden şekil 4.14(B)'deki grafikten de anlaşılabileceği gibi en iyi sıyırma potansiyeli 0.5 V olarak tespit edilmiştir.

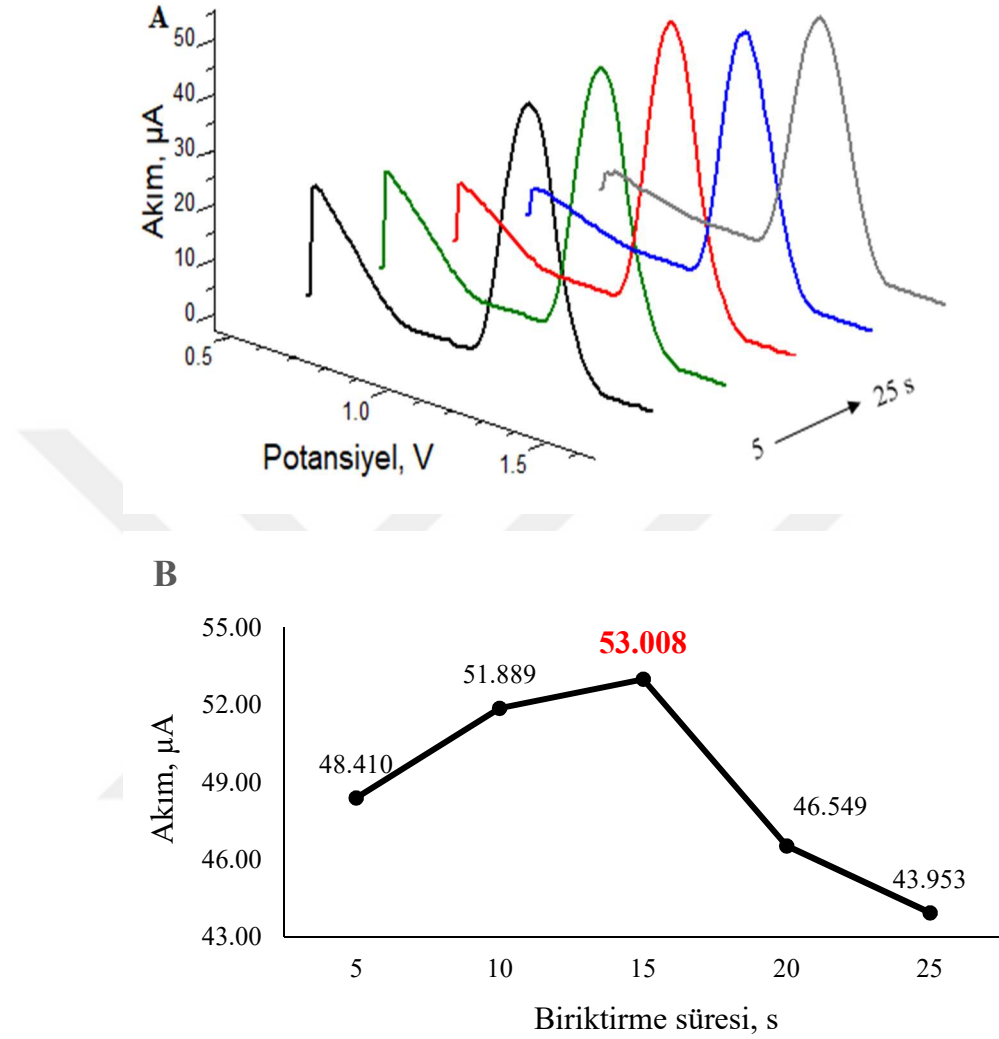


**Şekil 4.14:** Sıyırma potansiyelinin SİP SWSV pik akımına etkisi.

#### 4.1.7.3. Biriktirme süresinin etkisi

Elektrot üzerinde biriktirme işlemi, elektrokimyasal reaksiyon için mevcut analit kütlesini artırır ve buna bağlı olarak pik akımı büyüterek algılama seviyesinin önemli ölçüde düşmesine, yani duyarlılığın iyileşmesine yol açar. Ancak, bu iyileşme elektrodun yüzey alanı ile sınırlıdır ki, bu da biriktirme kapasitesi olarak adlandırılır. Bu durumda; modifiye elektrodun elektroaktif yüzey alanının biriktirme kapasitesinin aşılması durumunda sinyallerde küçülmeler başgöstermektedir. Bu kapsamda biriktirme süresi yaygın olarak kullanılan bir parametredir. Bu çalışmada biriktirme süresinin etkisini belirlemek için *p*(2TM)/GCE üzerinde 0.8 V potansiyelde 5, 10, 15, 20 ve 25 s süre ile biriktirme işlemi gerçekleştirilmiş ve SWSV yöntemi kullanılarak 0.5 V potansiyelde sıyrılarak ölçümler gerçekleştirilmiştir. Ölçümlerin sonucuna ait şekil 4.15(A)'da yer alan voltamogramlar ve sonuçları ifade eden şekil 4.15(B)'deki grafiğin incelenmesinden de anlaşılabacağı gibi

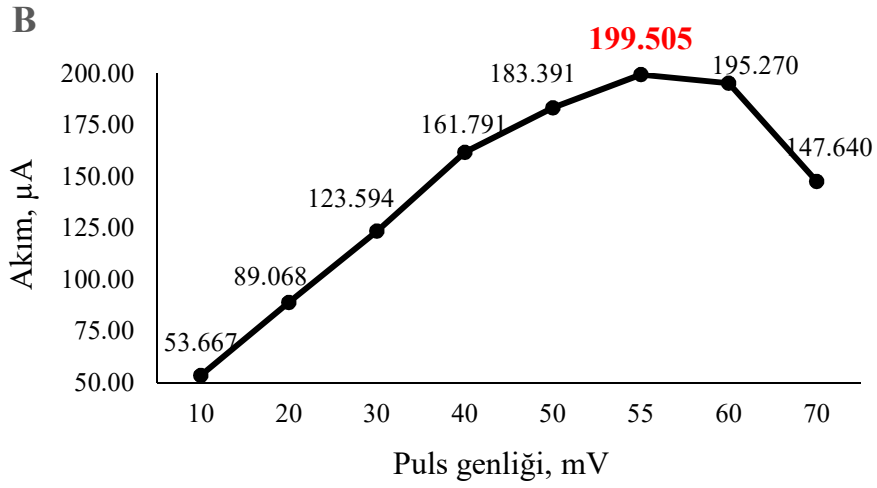
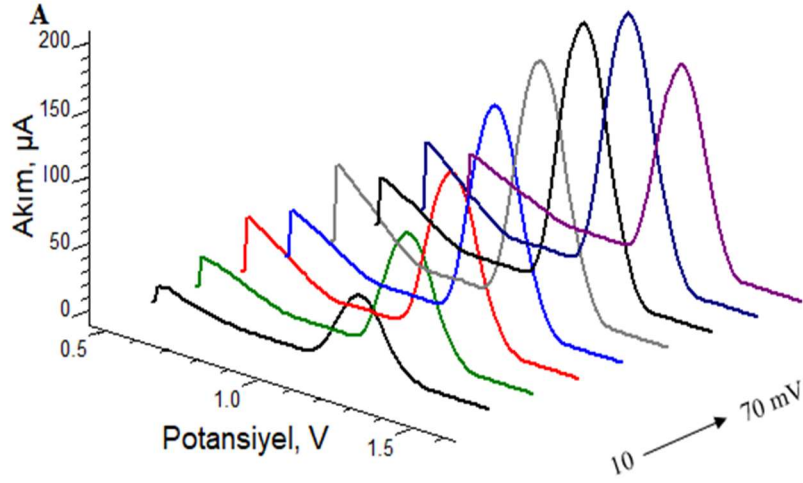
en iyi biriktirme süresi 15 s olarak belirlenmiştir. Daha fazla biriktirme süresinde pik akımının azalması elektrot yüzeyindeki SİP birikme miktarının sınır değerine ulaşıldığını yani, kapasitesini aştığını göstermiştir.



**Şekil 4.15:** Biriktirme süresinin SİP SWSV pik akımına etkisi.

#### 4.1.7.4. Puls genliğinin etkisi

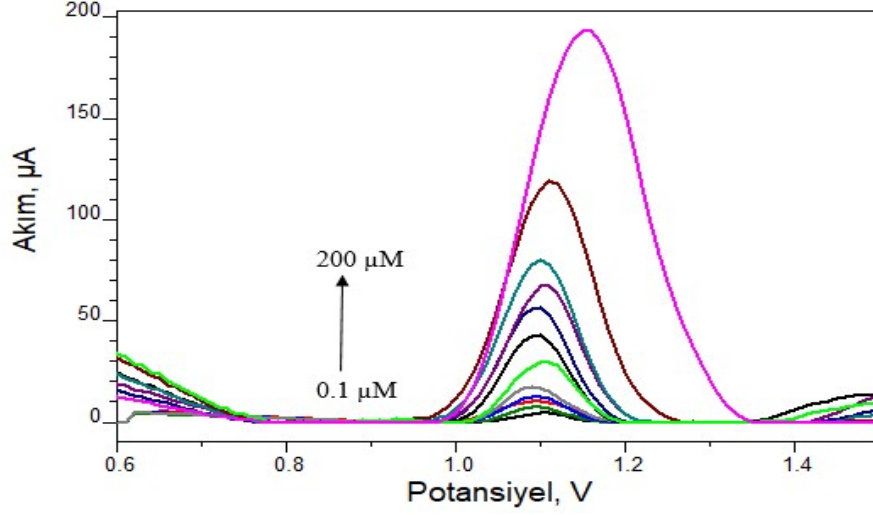
Puls genliğinin voltametric akım değerleri üzerindeki etkisi 10-70 mV aralığında incelenmiştir. Şekil 4.16(A) ve Şekil 4.16(B)'de de açıkça görüldüğü gibi SİP'in SWSV pik akımı, 55 mV puls genliğine kadar artmış ve bu değerden sonra azalmıştır. Bu nedenle 55 mV'luk puls genliği ile çalışmaya karar verilmiştir.



**Şekil 4.16:** Puls genliğinin SİP SWSV pik akımına etkisi.

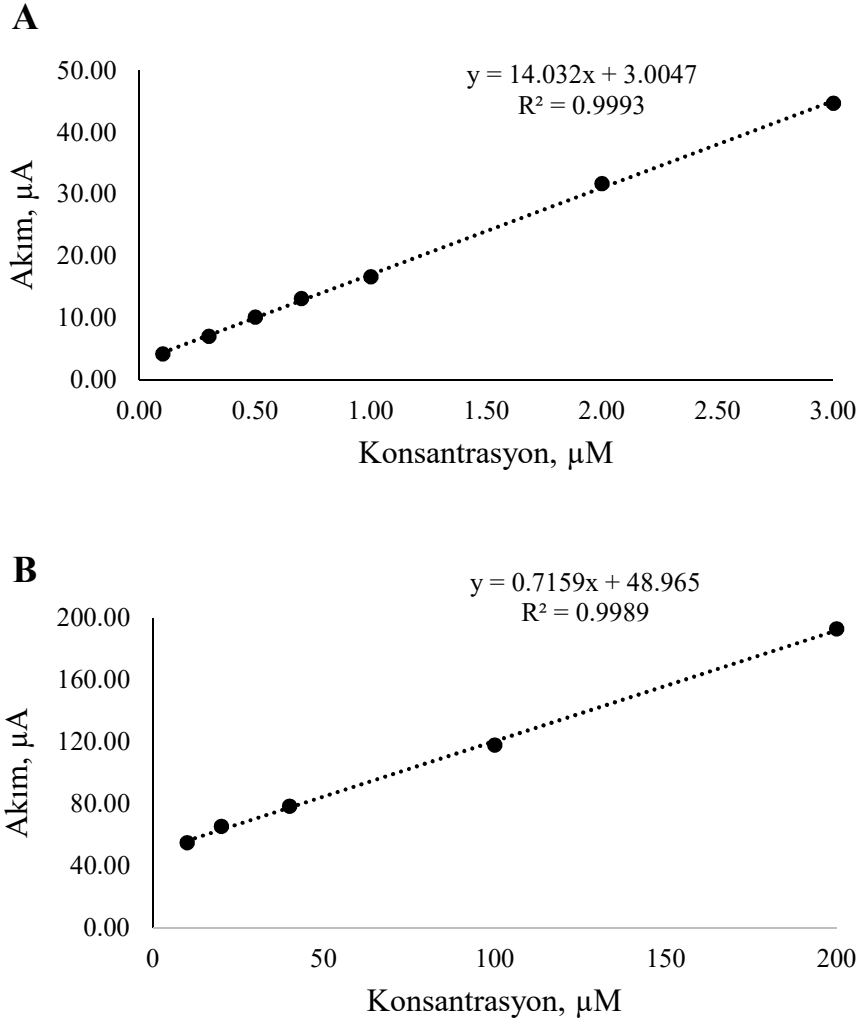
#### 4.1.8. Kalibrasyon grafiği

Yukarıda tespit edilen optimum koşullar altında 0.1-200  $\mu\text{M}$  (0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 1, 2, 3, 10, 20, 40, 100 ve 200  $\mu\text{M}$ ) konsantrasyon aralığında SWSV yöntemi ile yapılan ölçümler sonucunda elde edilen voltamogramlar şekil 4.17’de görülmektedir. (Voltamogramlarda zemin düzeltilmesi yapılmıştır.)



**Şekil 4.17:** 0.1-200 µM konsantrasyon aralığında SİP voltamogramları.

Bu voltamogramlar kullanılarak ortaya çıkan eğim farkından dolayı 2 farklı konsantrasyon aralığı için kalibrasyon grafiği çizilmiştir. İlk olarak 0.1-3 µM (küçük) konsantrasyon aralığı için çizilen ve şekil 4.18(A)'da görülen kalibrasyon grafiğine ait doğru denklemi,  $y=14.032x+3.0047$  ve  $R^2=0.9993$  olarak hesaplanmıştır. Kalibrasyon grafiğinden elde edilen veriler kullanılarak eşitlik (2.4)'teki formüle göre hesaplanan LOD 7 nM, eşitlik (2.5)'teki formüle göre hesaplanan LOQ ise 22 nM dır. İkinci kalibrasyon grafiği ise 10–200 µM (yüksek) konsantrasyon aralığı için çizilmiştir (şekil 4.18(B)). Bu kalibrasyon grafiğine ait doğru denklemi  $y=0.7159x+48.965$  ve  $R^2=0.9989$  olarak hesaplanmıştır.

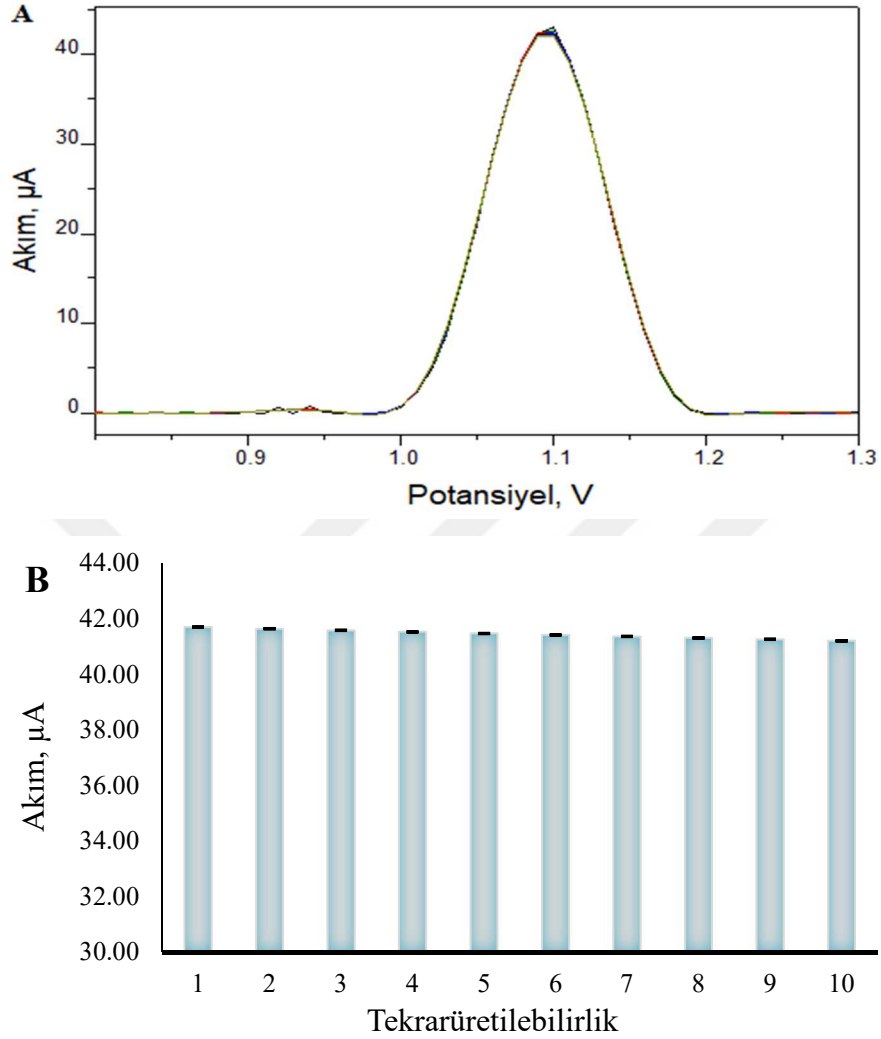


**Şekil 4.18:** SİP'in 0.1-3 ve 10-200  $\mu\text{M}$  konsantrasyon aralığında kalibrasyon eğrileri.

#### 4.1.9. Tekrarüretilebilirlik

Elektrokimyasal olarak modifiye edilen elektrotlar kullanılan polimere ve analite göre değişmekle beraber genellikle bir veya iki defa kullanılabilirler. Bu çalışmada hazırlanan *p*(2TM)/GCE'de tekrar tekrar kullanılabilir bir elektrot değildir. Yani tek kullanımlık bir modifiye elektrottur. Bu nedenle *p*(2TM)/GCE'nin yeniden üretilirliği bu çalışmada incelenmiştir. Bu amaç için GCE yukarıda anlatılan optimum şartlarda her defasında yeniden modifiye edilerek hazırlanmıştır. Arka arkaya 10 defa hazırlanan *p*(2TM)/GCE kullanılarak 3  $\mu\text{M}$  konsantrasyonundaki SİP'in elektrokimyasal davranışı SWSV yöntemi ile incelenmiştir. Ölçümler sonucunda ortaya çıkan voltamogramlar şekil 4.19(A)'da görülmektedir. Voltamogramlar ve şekil 4.19(B)'deki bar grafiğinden, standart sapma 0.17 ve % bağıl standart sapma 0.40 olarak hesaplanmıştır. Bu değerler

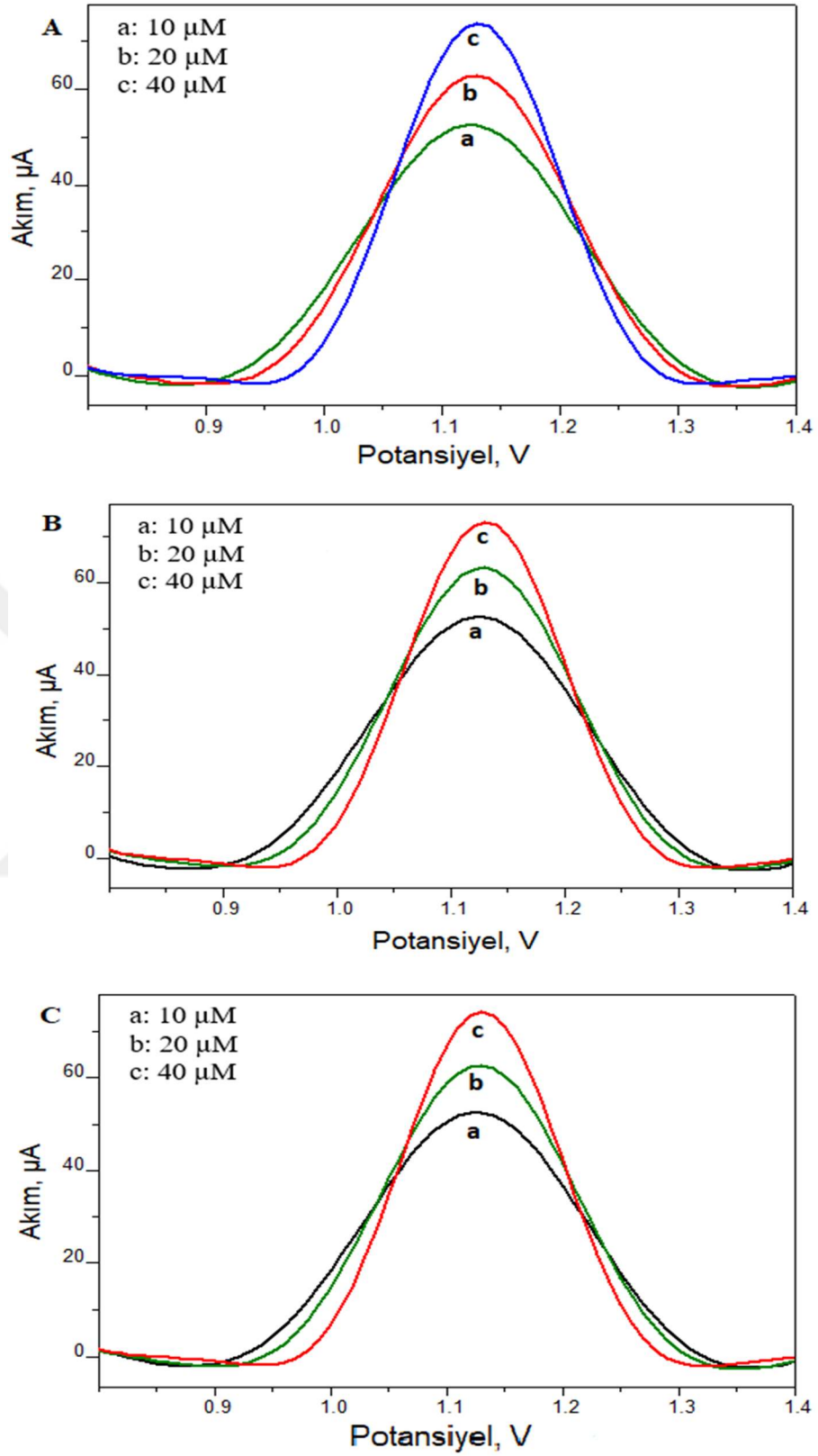
göz önüne alındığında, yöntemin tekrarlanabilir, son derece kararlı ve duyarlı (% 99,60) olduğu görülmektedir.



**Şekil 4.19:** *p*(2TM)/GCE'nin tekrarüretilebilirliği.

#### 4.1.10. Sentetik idrarda siprofloksasin tayini

SİP büyük oranda vücudumuzdan idrar yoluyla atılmaktadır. Bu nedenle geliştirilen yöntemin sentetik idrarda SİP tayini standart ekleme metodu ile test edilmiştir. Bunun için bölüm 3.6'da belirtildiği şekliyle sentetik idrar çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan bu idrar çözeltisinden 1 mL alınıp SitT (pH=5.00) ile 5 mL'ye tamamlanmış (1:4) ve hazırlanan bu çözeltinin pH'sı da 5.00'a ayarlanmıştır. Bu şekilde hazırlanan 3 seri çözeltinin her birinin içerisine sırasıyla 10, 20 ve 40  $\mu\text{M}$  SİP ilavesi yapılmış ve her ilaveden sonra SWSV metodu ile ölçümler gerçekleştirilmiştir. Yapılan ölçümler sonucunda elde edilen voltamogramlar şekil 4.20(A, B, C)'de görülmektedir.



**Şekil 4.20:** Sentetik idrarda SİP tayini.

Ölçümler sonucunda bulunan konsantrasyon kullanılarak geri kazanım verimleri eşitlik (2.2) kullanılarak hesaplanmıştır. Hesaplanan % geri kazanım verimleri incelendiğinde



10  $\mu\text{M}$  ilave için % 99.72-% 99.88, 20  $\mu\text{M}$  ilave için % 99.25-% 99.65 ve 40  $\mu\text{M}$  ilave için % 95.55-% 96.46 oranlarında geri kazanım verimi elde edildiği Çizelge 4.2’ de görülmektedir. *p*(2TM)/GCE’nin sentetik idrar çözeltisinde SİP’i, çok iyi kararlılık ve duyarlılıkla tayin ettiği görülmektedir.

**Çizelge 4-2: SİP % Geri kazanım verimi.**

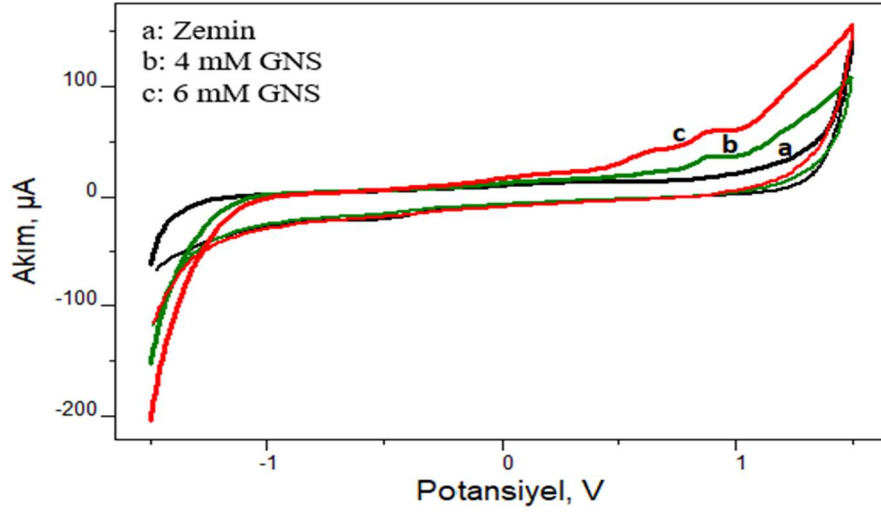
| Eklenen miktar ( $\mu\text{M}$ ) | Bulunan miktar ( $\mu\text{M}$ ) |                          |                          | Geri Kazanım Verimi (%) |          |          | Standart sapma |
|----------------------------------|----------------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|----------|----------|----------------|
|                                  | Seri 1 ( $\mu\text{M}$ )         | Seri 2 ( $\mu\text{M}$ ) | Seri 3 ( $\mu\text{M}$ ) | Seri 1 %                | Seri 2 % | Seri 3 % |                |
| 10.00                            | 9.97                             | 9.99                     | 9.97                     | 99.72                   | 99.88    | 99.74    | $\pm 0.009$    |
| 20.00                            | 19.87                            | 19.93                    | 19.85                    | 99.33                   | 99.65    | 99.25    | $\pm 0.042$    |
| 40.00                            | 38.44                            | 38.22                    | 38.58                    | 96.10                   | 95.55    | 96.46    | $\pm 0.182$    |

#### 4.2. Gentamisin Sensörünün Hazırlanması

Tez kapsamında elektropolimerizasyon yöntemi kullanılarak iki farklı yöntemle GNS sensörü hazırlanmıştır. Birinci yöntemde 3TCA ve 3MTF monomerlerinin karışımından oluşan bir kopolimer kullanılarak GCE, CV metodu ile modifiye edilmiş ve modifiye elektrot üzerinde GNS’nin elektrokimyasal davranışı SWV metodu ile incelenmiştir. İkinci yöntemde ise  $\beta$ CD ve pTSA monomerleri ile hazırlanan polimer kullanılarak GCE, CV metodu ile modifiye edilmiş ve modifiye elektrot üzerinde GNS’nin elektrokimyasal davranışı SWV metodu ile incelenmiştir.

##### 4.2.1. Gentamisinin yükseltgenme/indirgenme potansiyelinin belirlenmesi

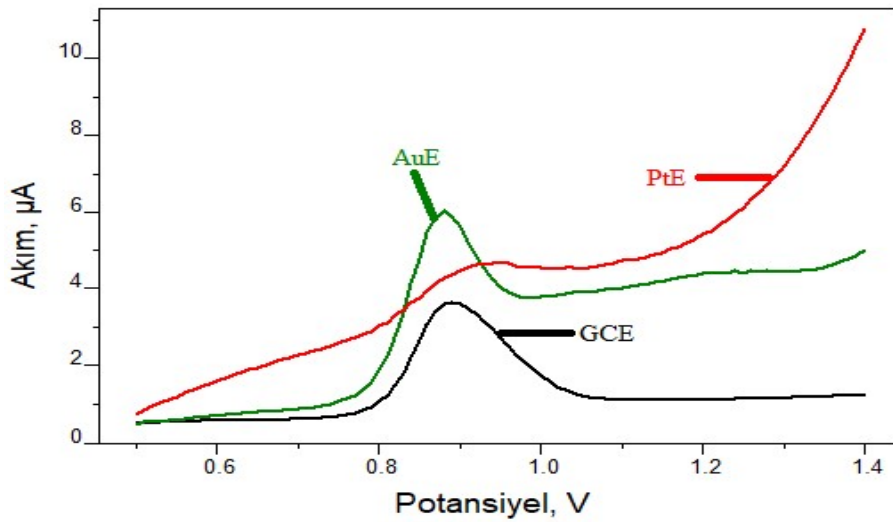
GNS’nin yükseltgenme/indirgenme potansiyelini belirlemek için çıplak GCE, FT (pH=7) zemin çözeltisi içerisine daldırılarak (-1.5)-(1.5) V potansiyel aralığında CV yöntemi ile bir döngülük ölçüm gerçekleştirilmiştir. Daha sonra kullanılan FT içerisine GNS konsantrasyonu, toplam 4 ve 6 mM olacak şekilde GNS stok çözeltisinden ilave edilerek tekrar aynı potansiyel aralığında CV yöntemi ile ölçümler yapılmıştır. Yapılan ölçümler karşılaştırıldığında şekil 4.21’den de anlaşıldığı gibi GNS’nin yaklaşık 0.86 V civarında geri dönüşümsüz bir şekilde yükseltgenme piki verdiği görülmüştür.



Şekil 4.21: GNS yükseltgenme potansiyeli.

#### 4.2.2. Kullanılacak çalışma elektrotunun seçimi

GNS tayini için en uygun çalışma elektrotunu seçmek amacıyla FT (pH 7.00) içerisinde GNS stok çözeltisinden 4 mM ilave edilerek çıplak PtE, AuE ve GCE ile (0.5)-(1.4) V potansiyel aralığında SWV yöntemi kullanılarak ölçümler alınmıştır. Ölçüm sonuçlarını gösteren voltamogramlar şekil 4.22’de verilmiştir. Voltamogramlardan da anlaşılabileceği gibi GNS için AuE ve GCE’nin iyi yanıt verdiği görülmektedir. Ancak GCE ile elde edilen GNS pikinin daha simetrik olması nedeniyle çalışma elektrodu olarak GCE kullanılmasına karar verilmiştir.



Şekil 4.22: GNS tayini için elektrot seçimi.

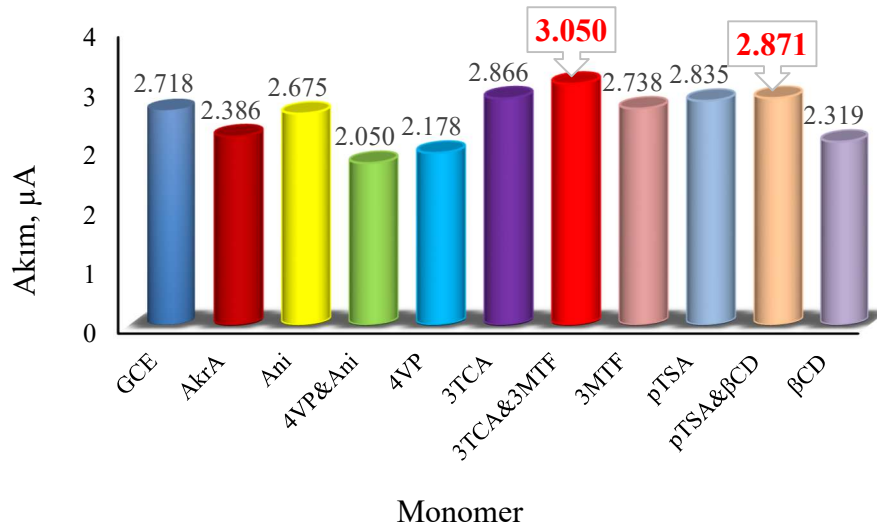
#### 4.2.3. Elektrot modifikasyonu

GNS tayininde kullanılmasına karar verilen GCE elektropolimerizasyon yöntemi ile modifiye edilmiştir. Bu amaç için CV metodu kullanılarak farklı monomerler GCE

yüzeyinde (-1.2)-(1.2) V potansiyel aralığında, 100 mV/s tarama hızında ve 4 döngü olacak şekilde biriktirilerek GNS'ye en uygun monomerler seçilmiş, daha sonrada elektrodun seçiciliğini ve duyarlılığını artırmak açısından monomer derişimi, tarama hızı ve film kalınlığı gibi parametreler optimize edilerek elektrot modifiye edilmiştir.

#### 4.2.3.1. Monomer seçimi

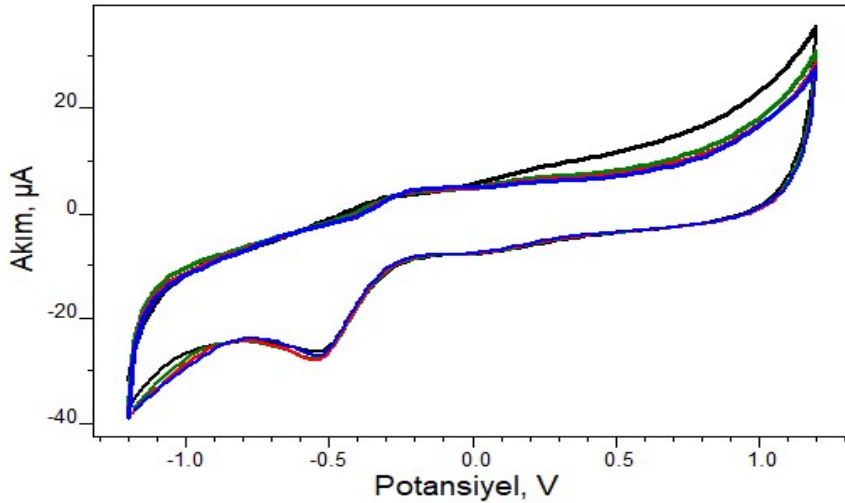
GNS'ye karşı en duyarlı olan monomeri belirlemek için; FT (pH=7.00) içerisinde AkrA, 4VP, 3TCA, pTSA,  $\beta$ CD ve  $\beta$ CD-pTSA karışımından oluşan monomer çözeltileri; 0.1 M sodyum perklorat içeren AcN çözeltisi içerisinde 3MTF, 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> içerisinde Ani ve 4VP-Ani karışımından oluşan monomer çözeltileri; 0.1 M sodyum perklorat içeren; AcN:su (1:1) çözeltisi içerisinde; 3TCA-3MTF monomerlerinin karışımından oluşan çözelti hazırlanmıştır. Toplam konsantrasyonu 5 mM olarak hazırlanan bu monomer çözeltileri ile (-1.2)-(1.2) V potansiyel aralığında, 100 mV/s tarama hızı ve 4 döngü koşullarında CV yöntemi kullanılarak GCE modifiye edilmiştir. Modifiye GCE'ler kullanılarak SWV yöntemi ile GNS'nin elektrokimyasal davranışı incelenmiştir. Şekil 4.23'de verilen bar grafiği incelendiğinde GNS için en iyi yanıtı, birinci yöntem için 3TCA ve 3MTF monomer çözeltilerinin karışımı; ikinci yöntem için  $\beta$ CD ve pTSA monomer çözeltilerinin karışımı ile modifiye edilen elektrotların verdiği görülmüştür. Bu nedenle çalışmanın bundan sonraki kısımlarında monomer olarak birinci yöntem için 3TCA ve 3MTF monomerlerinin karışımıyla elde edilen kopolimerin ve ikinci yöntem için ise  $\beta$ CD ile pTSA monomerlerinin karışımıyla elde edilen polimerin kullanılmasına ve iki farklı yöntemle GNS tayinine karar verilmiştir.



Şekil 4.23: GNS için monomer seçimi.

#### 4.2.4. 3-Tiyofen karboksilik asit ko 3-metil tiyofen kullanarak gentamisin tayini

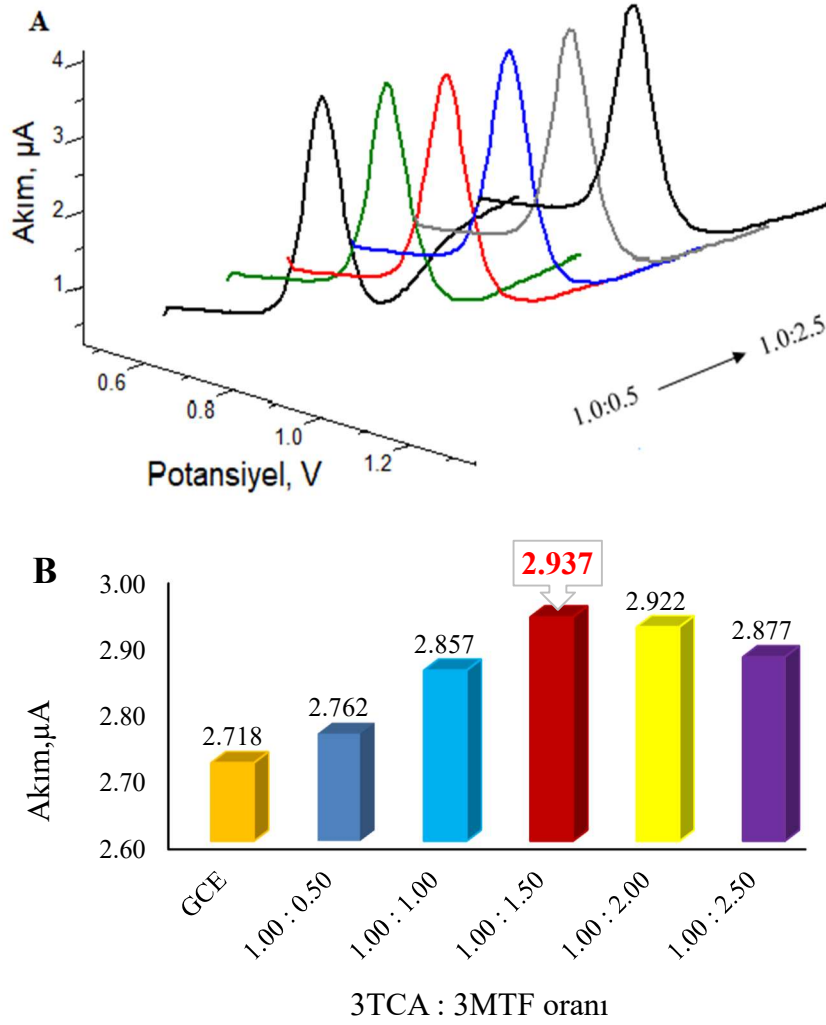
Yukarıdaki bölümde anlatıldığı gibi GNS için en iyi yanıtı 3TCA ve 3MTF monomerlerinin karışımıyla elde edilen kopolimerin verdiği görülmüştür. Kopolimerler; İki ayrı monomerden oluşan polimerlerdir. Monomer oranları değiştirilerek kopolimerlerin iletkenlikleri değiştirilebilir. Bu nedenle kopolimer olarak kullanılmaya karar verilen 3TCA ve 3MTF oranlarının etkisi incelenmiştir. 3TCA-3MTF monomer çözeltilerinin karışımına ait polimerleşme voltamogramı şekil 4.24'da görülmektedir.



Şekil 4.24: 3TCA ko 3MTF polimerleşme voltamogramı.

##### 4.2.4.1. Monomer oranının etkisi

3TCA:3MTF monomer oranının etkisini incelemek için 3TCA monomeri 1 mM' da sabit tutularak 3MTF konsantrasyon oranı değiştirilerek farklı oranlardaki monomer çözeltileri (1.00:0.50, 1.00:1.00, 1.00:1.50, 1.00:2.00 ve 1.00:2.50), 0.1 M Sodyum perklorat içeren 1:1 oranındaki AcN:Su karışımı içerisinde hazırlanmıştır. Hazırlanan bu monomer çözeltileri ile (-1.2)-(1.2) V potansiyel aralığında, 100 mV/s tarama hızı ve 4 döngü koşullarında CV yöntemi kullanılarak GCE modifiye edilmiştir. Modifiye GCE'ler kullanılarak SWV yöntemi ile GNS'nin elektrokimyasal davranışı incelenmiştir. Şekil 4.25(A)'da görülen voltamogramlar ve şekil 4.25(B)'deki bar grafiği incelendiğinde GNS için en iyi yanıtı 1.00:1.50 oranındaki 3TCA:3MTF monomer çözeltisinin verdiği görülmüştür. Bu nedenle çalışmanın bundan sonraki kısımlarında monomer oranı olarak 1.00:1.50 oranının kullanılmasına karar verilmiştir.

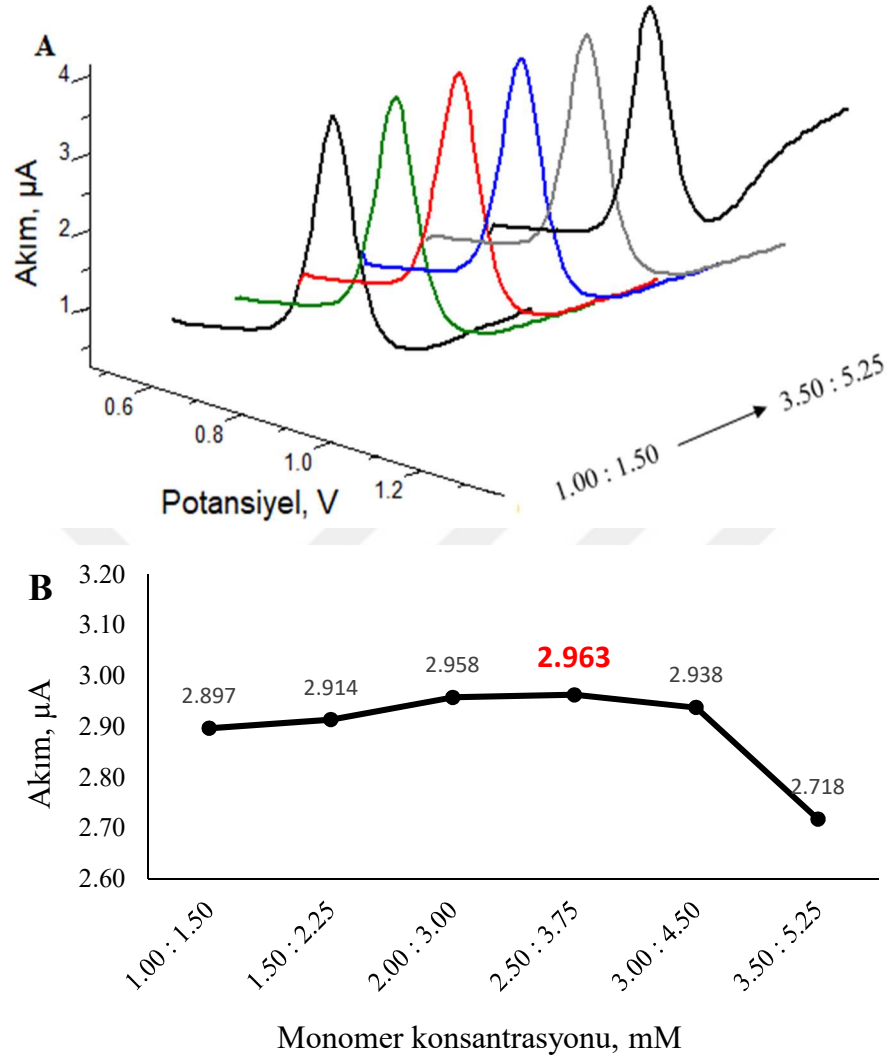


**Şekil 4.25:** 3TCA:3MTF monomer oranının GNS SVW pik akımına etkisi.

#### 4.2.4.2. Monomer konsantrasyonunun etkisi

GNS'nin elektrokimyasal davranışı üzerine etki edecek olan en iyi monomer konsantrasyonunu belirlemek açısından yukarıda belirtilen monomer oranı (1.00:1.50) göz önünde bulundurularak farklı konsantrasyonlarda (1.00:1.50, 1.50:2.25, 2.00:3.00, 2.50:3.75 ve 3.00:4.50 mM) monomer çözeltileri hazırlanmıştır. Hazırlanan bu monomer çözeltileriyle CV metodu ile modifiye edilen elektrotlar kullanılarak, SWV yöntemi ile ölçümler gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.26 (A ve B)'de yer alan voltamogram ve grafik incelendiğinde en iyi monomer konsantrasyonunun 2.50 mM 3TCA:3.75 mM 3MTF karışımının olduğu görülmektedir. Sonuçlar incelendiğinde konsantrasyon artışıyla beraber GNS'ye ait pik akımının 2.50 mM 3TCA:3.75 mM 3MTF'ye kadar arttığı, monomer konsantrasyonunun daha fazla artırılmasıyla beraber GNS pik akımının azalmaya başladığı görülmüştür. Monomer konsantrasyonunun artmasıyla beraber

elektrot yüzeyinde daha fazla polimer birikmesinin pik akımının azalmasına yol açtığı düşünülmektedir.

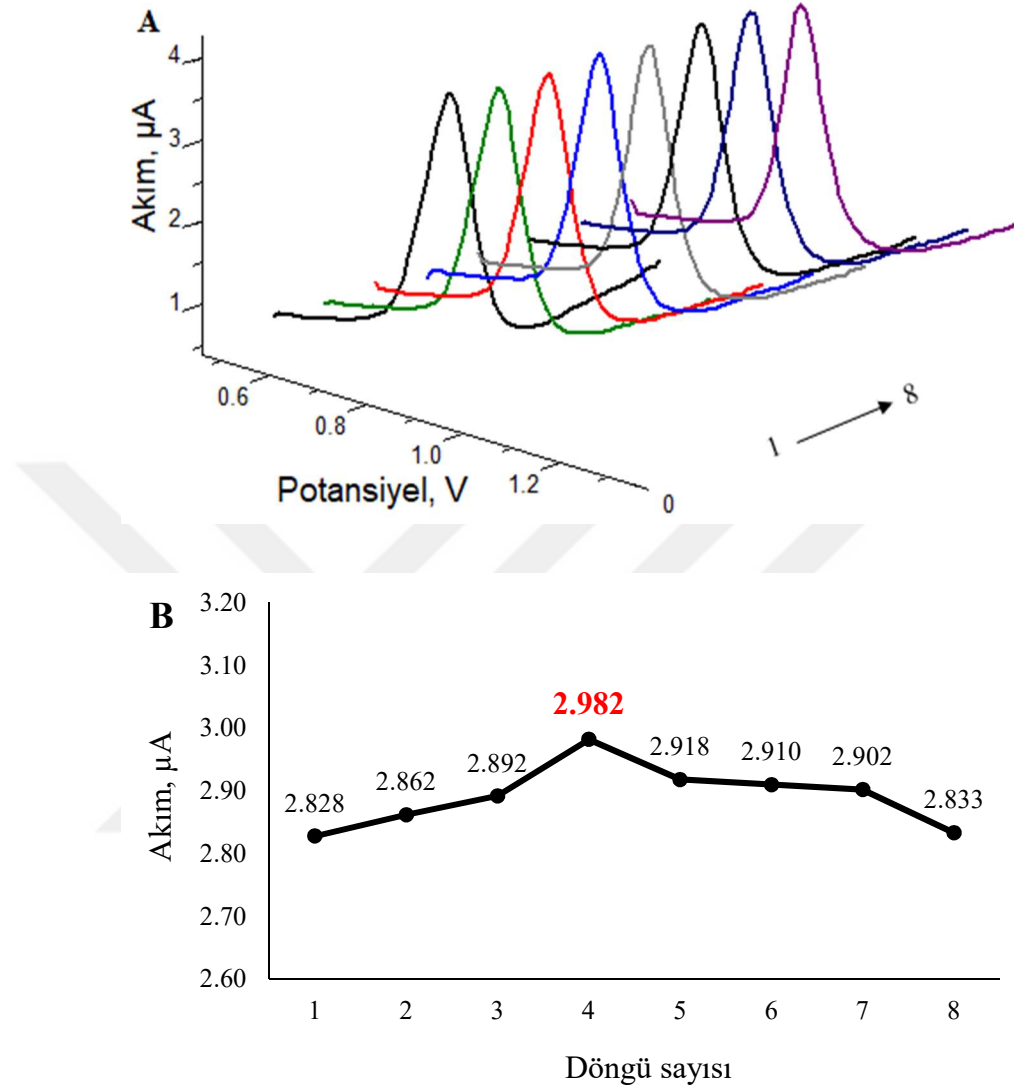


**Şekil 4.26:** 3TCA:3MTF monomer konsantrasyonunun GNS SVW pik akımına etkisi.

#### 4.2.4.3. Film kalınlığının etkisi

Film kalınlığının etkisi CV yönteminde döngü sayısı değiştirilerek araştırılmıştır. Bu işlem için yukarıda optimize edilen parametreler kullanılarak CV metodu ile 1, 2, 3, 4,5,6,7 ve 8 döngülük filmler oluşturularak GCE modifiye edilmiştir. Modifiye edilen elektrotların GNS'nin elektrokimyasal davranışı üzerine etkisi SWV yöntemi ile incelenmiş olup şekil 4.27(A)'da yer alan voltamogramlar ve şekil 4.27(B)'deki grafiğin incelenmesi sonucunda da görülebileceği gibi GNS için en iyi pik akımı 4 döngülük film ile elde edilmiştir. 5. döngüden itibaren modifiye edilen elektrot yüzeyinde film kalınlaştıkça buna bağlı olarak GNS pik akımı azalmaktadır. Filmin daha fazla kalınlaşmasıyla beraber analitin elektrot üzerindeki elektron aktarım hızının düşmesinin,

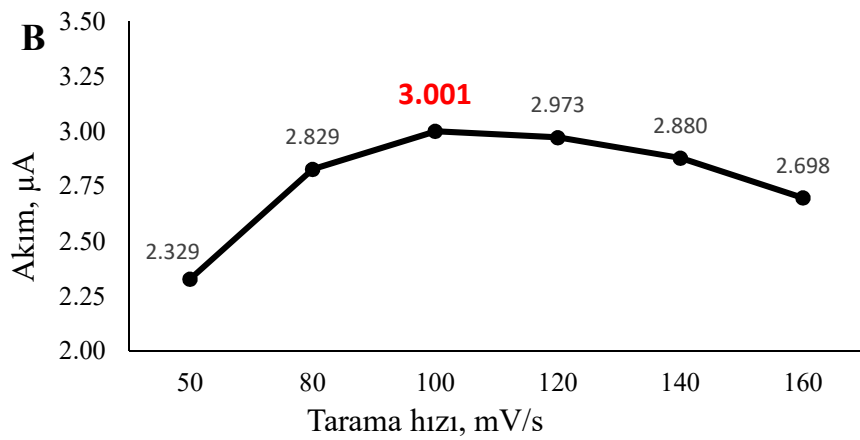
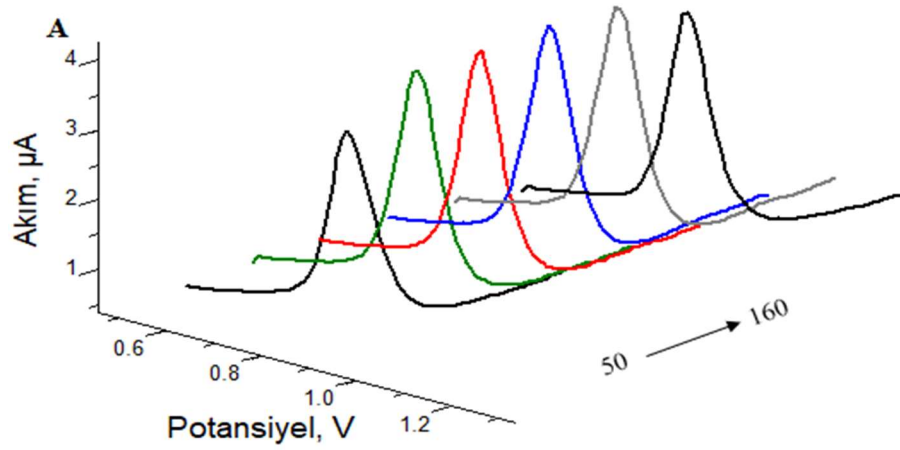
diğer bir deyişle aktarım süresinin artmasının, GNS pik akımının azalmasına yol açtığı düşünülmektedir.



**Şekil 4.27:** Film kalınlığının GNS SWV pik akımına etkisi.

#### 4.2.4.4. Tarama hızının etkisi

Tarama hızının etkisini belirlemek için GCE yüzeyinde 50, 80, 100, 120, 140 ve 160 mV/s, tarama hızlarında 4 döngüden oluşan filmler oluşturulmuştur. Modifiye edilen elektrotlar ile GNS'nin elektrokimyasal davranışı SWV metodu ile incelenmiş olup şekil 4.28(A ve B)'de yer alan voltamogramlar ve grafiğin incelenmesinden de anlaşılabileceği gibi en iyi pik akımı 100 mV/s tarama hızı ile oluşturulan film ile elde edilmiştir.



Şekil 4.28: CV tarama hızının GNS SWV pik akımına etkisi.

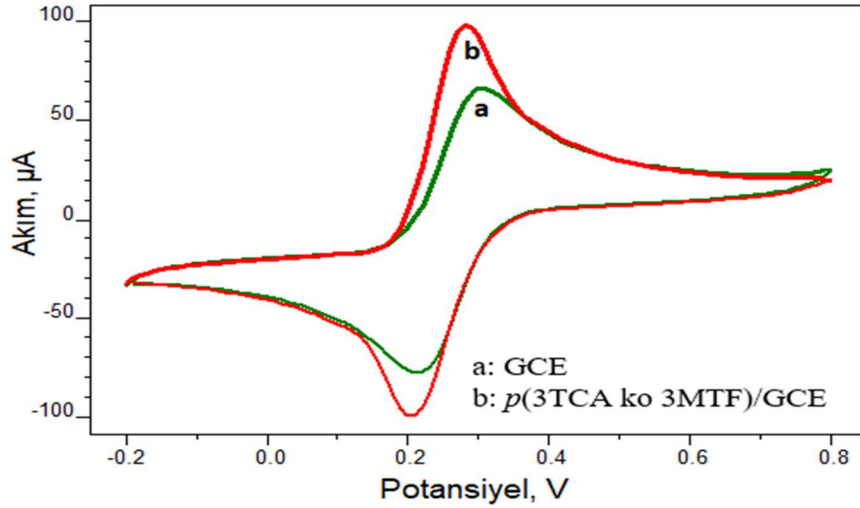
#### 4.2.5. Elektrokatalitik aktivite

Çıplak ve 3TCA-3MTF ile modifiye edilen GCE ( $p(3TCA \text{ ko } 3MTF)/GCE$ )'nin CV metodu ile (-0.2)-(0.8) V potansiyel aralığında 1 M  $KNO_3$  içinde 6 mM  $K_3[Fe(CN)_6]$ 'nin elektrokimyasal yanıtına ait voltamogramlar şekil 4.29'da ve bu voltamogramlardaki pik akımları çizelge 4.3'de gösterilmiştir. Çizelgedeki pik akımlarından da anlaşılacağı gibi  $p(3TCA \text{ ko } 3MTF)/GCE$ , çıplak GCE'ye göre çok iyi bir elektrokatalitik aktivite sergilemiştir.

Çizelge 4-3: GCE ve  $p(3TCA \text{ ko } 3MTF)/GCE$ 'nin elektrokatalitik aktivitesine ait pik akımları.

| Elektrot                       | Yükseltgenme   |                  | İndirgenme     |                  |
|--------------------------------|----------------|------------------|----------------|------------------|
|                                | Potansiyel (V) | Akım ( $\mu A$ ) | Potansiyel (V) | Akım ( $\mu A$ ) |
| GCE                            | 0.31           | 71.075           | 0.21           | 33.851           |
| $p(3TCA \text{ ko } 3MTF)/GCE$ | 0.28           | 104.638          | 0.20           | 44.934           |



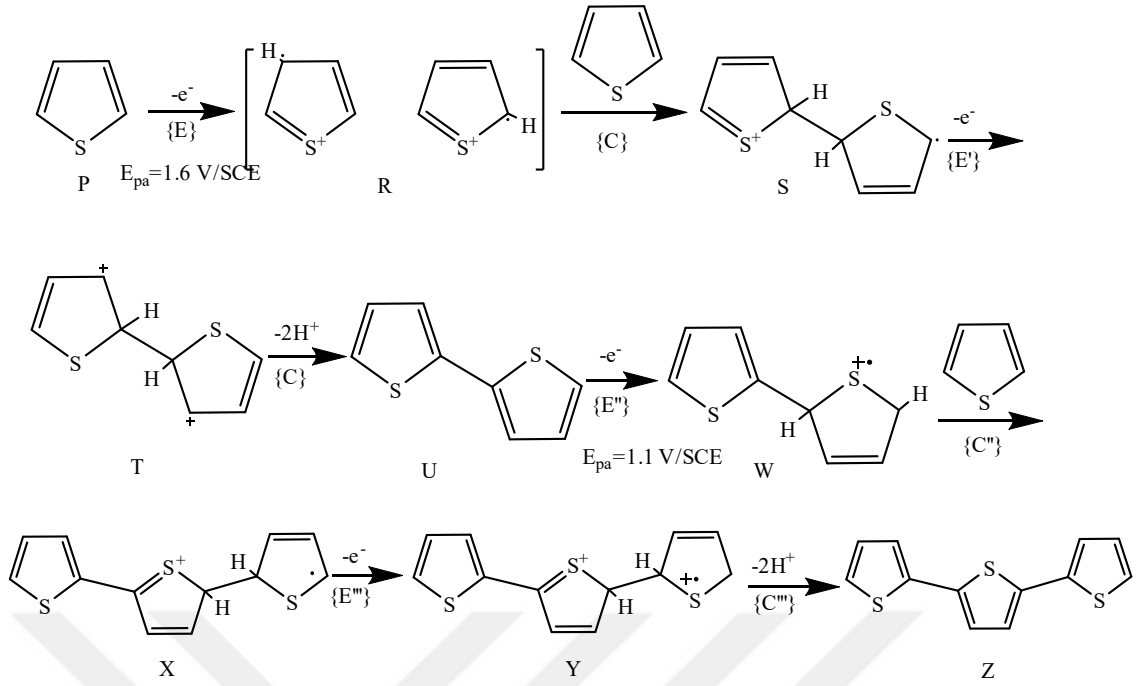


**Şekil 4.29:**  $p(3TCA \text{ ko } 3MTF)/GCE$ 'nin elektrokatalitik aktivitesi.

#### 4.2.6. $p(3TCA \text{ ko } 3MTF)/GCE$ 'nin polimerleşme mekanizması

İletken polimerlerin ve iletken polimerik filmlerin hazırlanması için en yaygın ve en kullanışlı yöntem elektrokimyasal yöntemlerdir. Bu yöntemde, uygun elektroaktif fonksiyonel monomerlerin anodik oksidasyonu gerçekleştirilir. Katodik indirgeme çok daha az kullanılır. Elektrokimyasal iletken film üretme yönteminde, bir polimer filmin oluşumu ve oksidasyonun bir sonucu olarak karşı iyonların katkısı aynı anda meydana gelir. Çoğu zaman, polimerleşmeye yol açan monomer oksidasyon potansiyeli, oligomerik ara maddelerin veya ortaya çıkan polimerin yüklenmesinden daha yüksektir. iletken polimerik filme yol açan elektropolimerizasyon mekanizması hala tam olarak anlaşılamamıştır ve farklı şekillerde tartışılmaktadır [59-64].

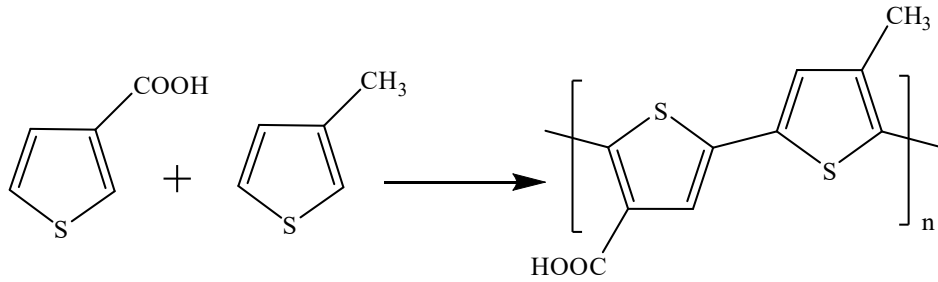
Tiyofen (Th) gibi bir elektroaktif monomerin elektropolimerik sentez mekanizması, şekil 4.30' da görülmektedir. Th'nin potansiyometrik elektropolimerizasyonunda [65-66], yüksek pozitif potansiyele sahip bir anodik tepe noktası ile ortaya çıkan Th elektrooksidasyonunun ilk, aşamasında büyük bir R radikal katyonu oluşur. İkinci adımında R, monomer kimyasal bir reaksiyon ile P ile reaksiyona girer ve bir radikal katyonun S protonlu dimeri oluşur. Daha sonra S, elektrokimyasal bir adımda T'ye (iki kat yüklü  $\sigma$ -dimer olarak adlandırılır) elektrooksidlenir. Nötr bir dimer olan U yapısı, iki protonun ortadan kaldırılmasının ürünüdür. Daha sonra, bu dimer ikinci bir elektrokimyasal reaksiyon aşamasında oksitlenir ve radikal bir katyon olan W türünü meydana getirir. Bu W yapısı kimyasal bir bağlanma reaksiyonu ile P ile reaksiyona girer. Bu adımlar, bir trimer, Z oluşturmak için mekanizmasına göre birbirini takip eder. [66].



**Şekil 4.30:** Politiyofenin elektropolimerik sentez mekanizması.

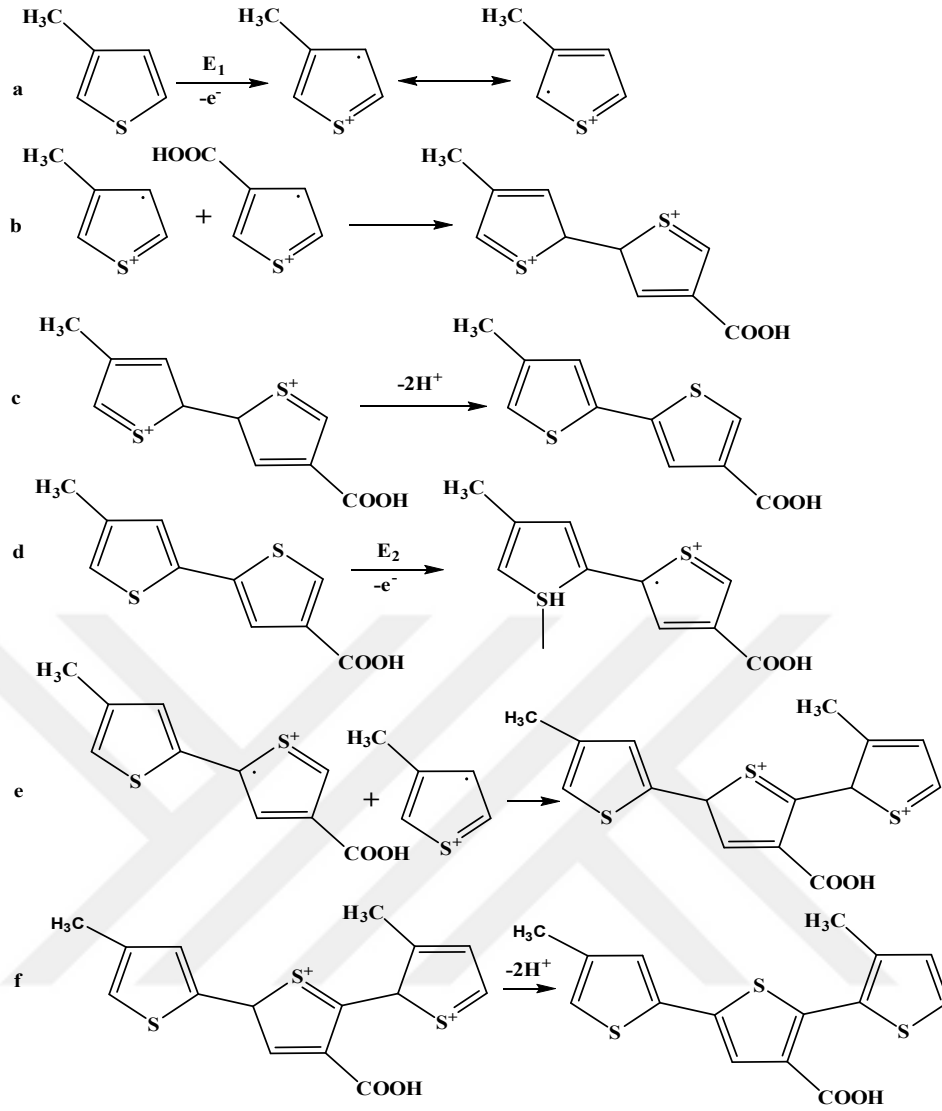
*Poli(Th)* (*p(Th)*) ve türevleri, kendiliğinden yüksek elektrik iletkenlikleri ( $\sim 10^6 \text{ S m}^{-1}$ ), kimyasal ve mekanik stabilite ve hem katkılı hem de katkısız durumlarında işlenebilirlikleri nedeniyle en çok kullanılan iletken polimerler arasındadır [66].

#### 4.2.6.1. *Poli(3TCA ko 3MTF)* film sentezi



**Şekil 4.31:** *p(3TCA ko 3MTF)* sentez şeması.

Sentez şeması şekil 4.31’ de verilen *p(3TCA ko 3MTF)*’nin elektropolimerizasyon mekanizması (şekil 4.32) Triantou ve diğ. (2015) tarafından verilmiş olan *p(3MTF)*’nin elektropolimerizasyon mekanizmasına benzer olacak şekilde gerçekleştiği düşünülmektedir [67].



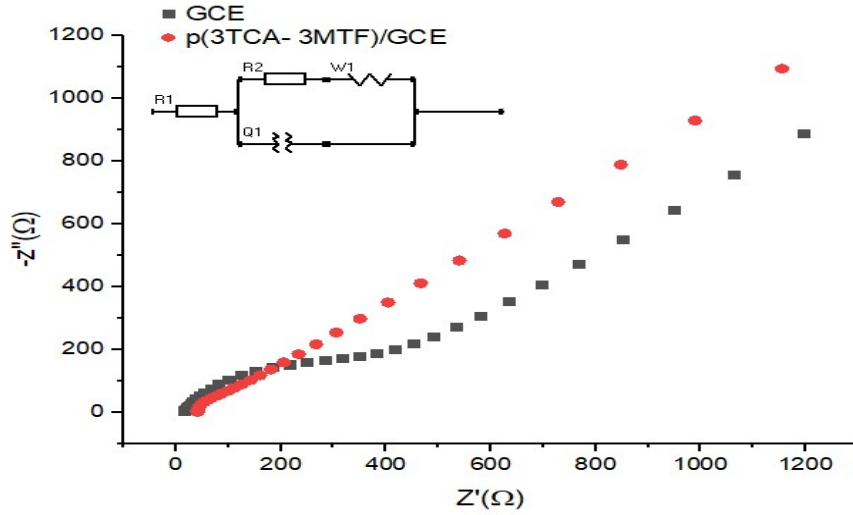
Şekil 4.32: *Poli(3TCA ko 3MTF)* elektropolimerizasyon mekanizması.

#### 4.2.7. Empedans ölçümleri

Çıplak ve modifiye elektrotlar, elektrokimyasal empedans spektroskopisi yöntemi (EIS) ile karakterize edilmiştir. EIS tekniği ile karakterizasyon, 6 mM ferrisiyanür içeren 1 M  $KNO_3$  varlığında bir Ivium potansiyostat ile, veri toplama işlemi ise IviumSoft™ yazılımı tarafından gerçekleştirilmiştir. EIS, GCE yüzeyinin 3TCA ve 3MTF bileşik katmanı tarafından modifikasyon etkisini araştırmak için kullanılmıştır. Empedans spektrumları ivium yazılımı kullanılarak eşdeğer devrelere yerleştirilmiştir (Şekil 4.33). Eşdeğer devreler şunları içerir: çözelti direnci ( $R_s$ ), yük transfer direnci ( $R_{ct}$ ), sabit faz elemanı (CP) ve Warburg direnci (W). Şekil 4.33, çıplak ve modifiye edilmiş GCE için tipik Nyquist grafiklerini temsil eder. Şekilde görüldüğü gibi, çıplak GCE'nin Nyquist grafikleri, yüksek frekans bölgesinde yarım daire ile düşük frekansta, düz bir çizgiyi temsil eder. Modifiye edilmiş elektrodun Nyquist grafikleri, yüksek frekans bölgesindeki

çıplak elektrot için gözlemlenen daha küçük bir yarı daireyi temsil eder. Bu da, çıplak GCE için tahmin edilenden daha düşük bir yük aktarım direnciyle ( $R_{ct}$ ) ilişkilidir. (Yani çıplak elektrodun yük aktarım direnci daha düşük, modifiye elektrodun direnci ise daha yüksektir. Direncin akım ile ters orantılı olmasından dolayı, modifiye elektrodun iletkenliği çıplak elektrodun iletkenliğinden daha yüksektir.)

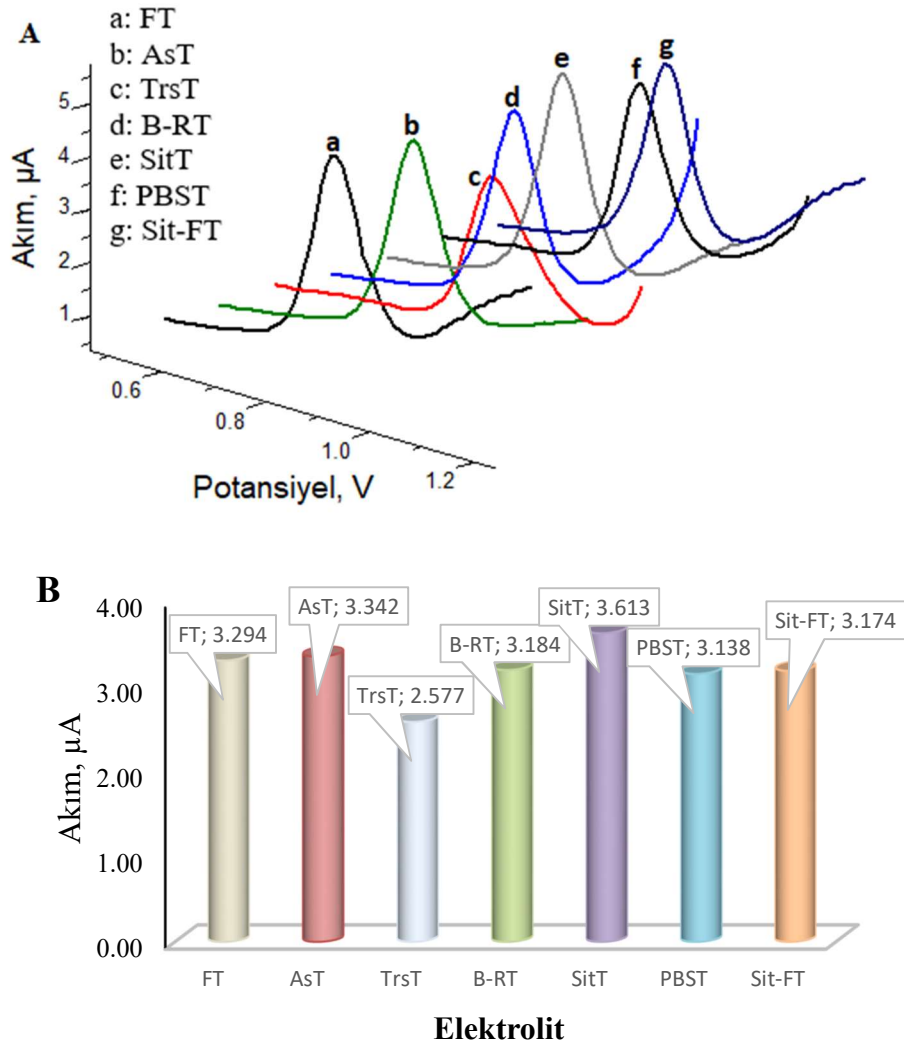
Sonuç olarak; modifiye elektrodun iletkenliğinin çıplak elektrottan daha iyi olması ile açıklanabilir.



Şekil 4.33: GCE ve  $p(3TCA ko 3MTF)/GCE$  empedans ölçümleri.

#### 4.2.8. Destek elektrolit etkisi

Her biri 0.1 M ve pH'sı 7.00 olan FT, AsT, TrsT, B-RT, SitT, PBST ve Sit-FT çözeltileri içerisine 4 mM konsantrasyonunda GNS stok çözeltisinden ilave edilmiştir. Hazırlanan bu çözeltiler kullanılarak  $p(3TCA ko 3MTF)/GCE$  ile SWV yöntemi ile ölçümler alınmıştır. Ölçüm sonucunda elde edilen ve şekil 4.34(A)'da yer alan voltamogramlar ve şekil 4.34(B)'deki bar grafiğın incelenmesinden de anlaşılaçağı gibi GNS en iyi elektrokimyasal davranışını SitT içerisinde sergilemiştir.

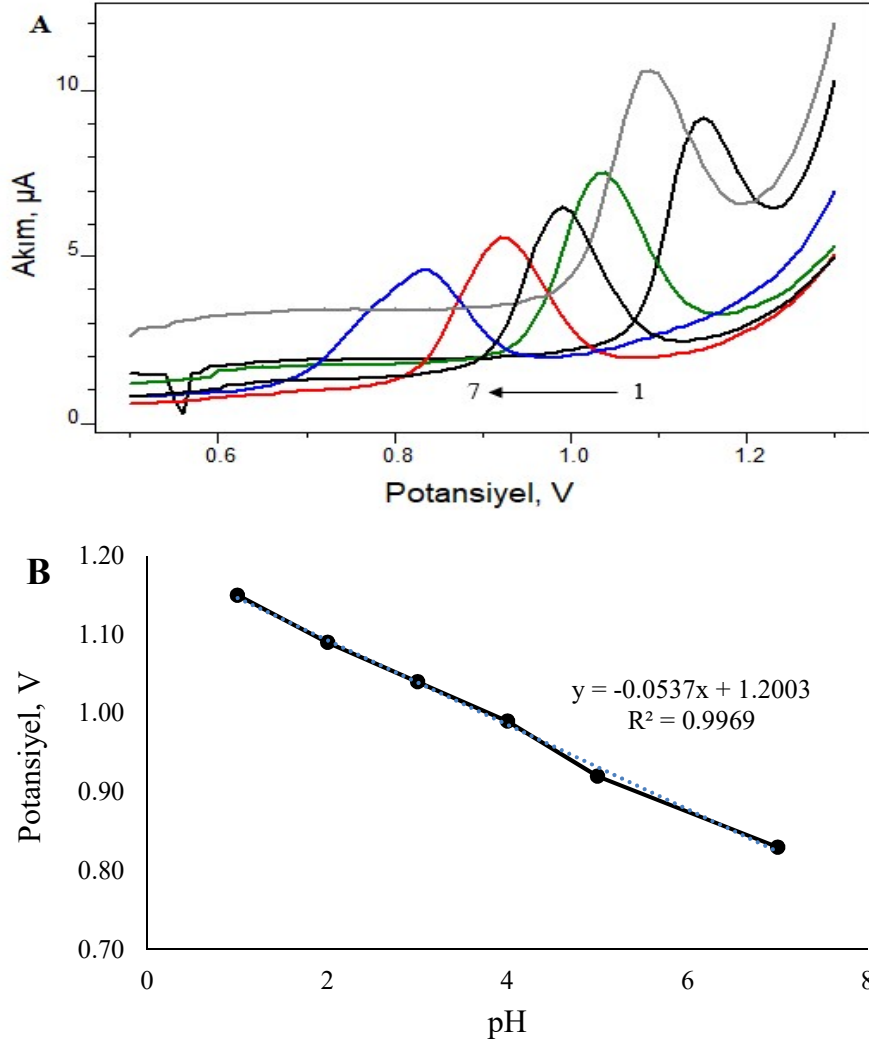


**Şekil 4.34:** Elektrolit türünün GNS SWV pik akımına etkisi.

#### 4.2.9. Destek elektrolitin pH etkisi

Destek elektrolitin pH değeri, analiz edilen maddelerin elektrokimyasal davranışını etkileyen önemli bir faktördür. Bu nedenle GNS'nin en iyi elektrokimyasal davranış sergilediği SitT'nin pH'ının  $E_p$  üzerindeki etkisi 1.00-7.00 aralığında araştırılmıştır. Artan pH ile, pik potansiyeli şekil 4.35(A)'da görüldüğü gibi negatif değerlere doğru kaymıştır. Şekil 4.35(B)'de yer alan pik potansiyeli ve pH arasındaki ilişkinin doğrusal olduğu eşitlik (4.2)'de görülmektedir.

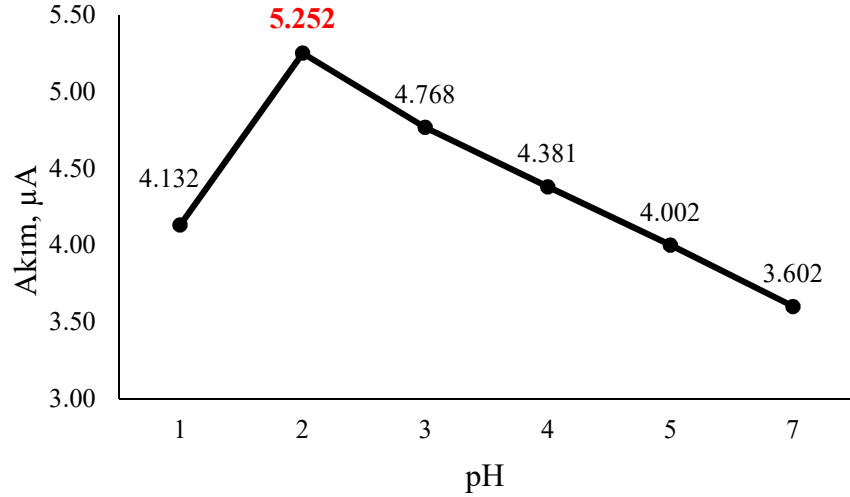
$$E_p = 1.2003 - 0.054 \text{ pH} \quad (R^2 = 0.9969) \quad (4.2)$$



**Şekil 4.35:** GNS SW voltamogramı (A), pH-potansiyel grafiği (B).

pH-Potansiyel grafiğinin eğimi olan 53.7 mV,  $p(3TCA \text{ ko } 3MTF)/GCE$  üzerinde GNS'nin eşit proton ve elektron oksidasyon sürecine karşılık gelen teorik Nernst eşitliğindeki 59 mV değerine yakındır.

Daha sonra 1.00-7.00 aralığındaki pH'nın, GNS'nin SWV pik akımı üzerindeki etkisi de araştırıldı. Elde edilen sonuçlardan, pik akımının pH 2.00'de maksimum değere ulaştığı ve daha sonra tekrar azalmaya başladığı görüldü (Şekil 4.36). Bu sonuçlar doğrultusunda GNS'nin en iyi elektrokimyasal davranışını elde etmek açısından çalışmanın bundan sonraki kısımlarında, pH'sı 2.00 olan SitT'nin kullanılmasına karar verilmiştir.



Şekil 4.36: pH-GNS SWV pik akımı ilişkisi.

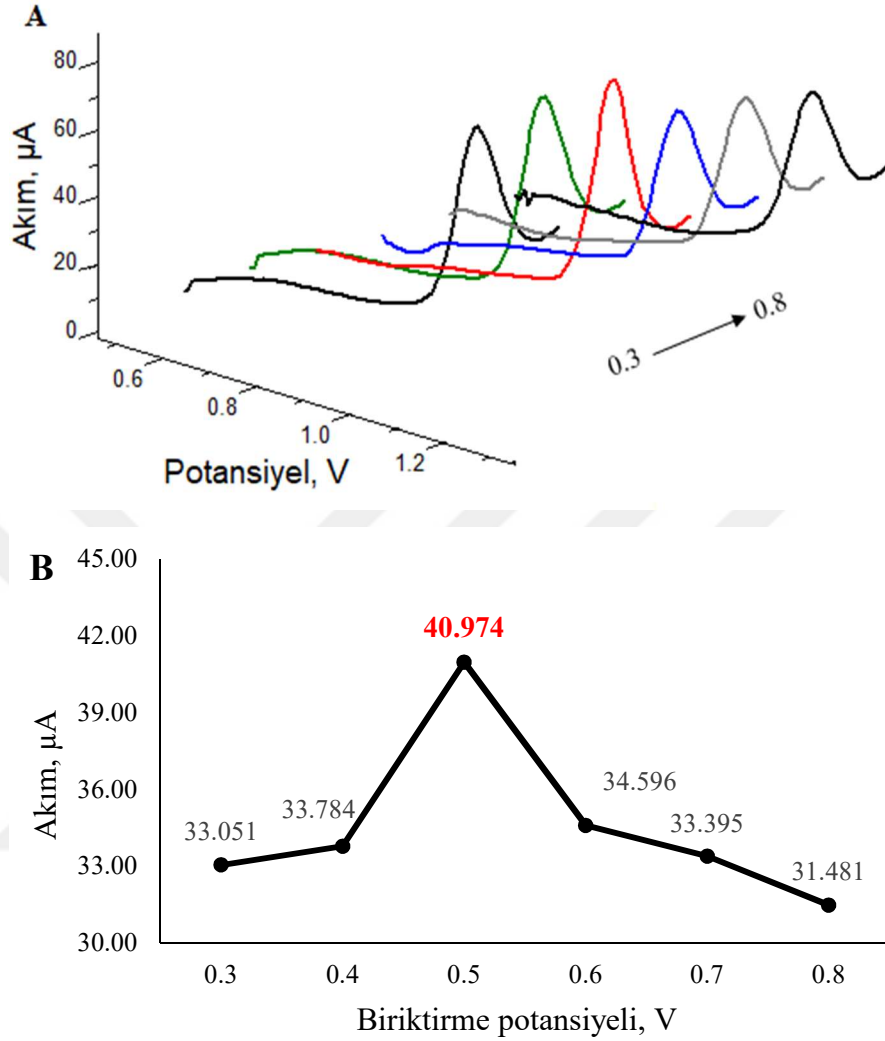
#### 4.2.10. SWV analiz parametrelerinin etkisi

Analitin mevcut yanıtını etkileyebilecek SWV parametrelerinin optimizasyonu, voltametrik prosedürün genişletilmesinde önemli bir adımdır. Bu nedenle, biriktirme potansiyeli, sıyırma potansiyeli, biriktirme süresi ve puls genliği gibi parametreler bu kapsamda optimize edilmiştir.

##### 4.2.10.1. Biriktirme potansiyelinin etkisi

Çalışmanın bu aşamaya kadar olan kısımlarında SWV yöntemi kullanılmıştır. Bu aşamadan itibaren biriktirme potansiyeli, sıyırma potansiyeli ve biriktirme süresinin etkisini incelemek üzere SWV yönteminin uzantısı olan birikim basamağı dışında SWV yöntemi ile aynı olan SWSV yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde biriktirme adımı, analit elektrot üzerine biriktirilir ve biriken analit daha sonra elektrottan sıyrılır. Elektrot üzerinde biriken analit, elektrokimyasal reaksiyon için mevcut analit kütlesini artırır, akımlar daha yüksektir, bu nedenle algılama seviyesi önemli ölçüde düşer. Daha düşük seviyelerde tayin yapabilmek açısından bu özelliğin kullanılması önem arz etmektedir. Bu yöntemde biriktirme potansiyelinin etkisini incelemek için 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 ve 0.8 V potansiyellerinde 30 saniye süre ile biriktirme işlemi gerçekleştirilerek 0.5 V potansiyelde sıyrılarak ölçümler yapılmıştır. Yapılan ölçümlere ait voltamogramlar şekil 4.37(A)'da ve ölçüm sonuçlarını ifade eden grafik şekil 4.37(B)'de yer almaktadır. Söz konusu voltamogram ve grafikte de görüldüğü gibi biriktirme işleminin GNS'nin elektrokimyasal davranışı üzerine çok büyük etkisi olmuştur. Farklı potansiyellerde

yapılan biriktirme işlemlerinden 0.5 V potansiyelde yapılan biriktirme işlemi GNS için en iyi yanıtı sergilemiştir.

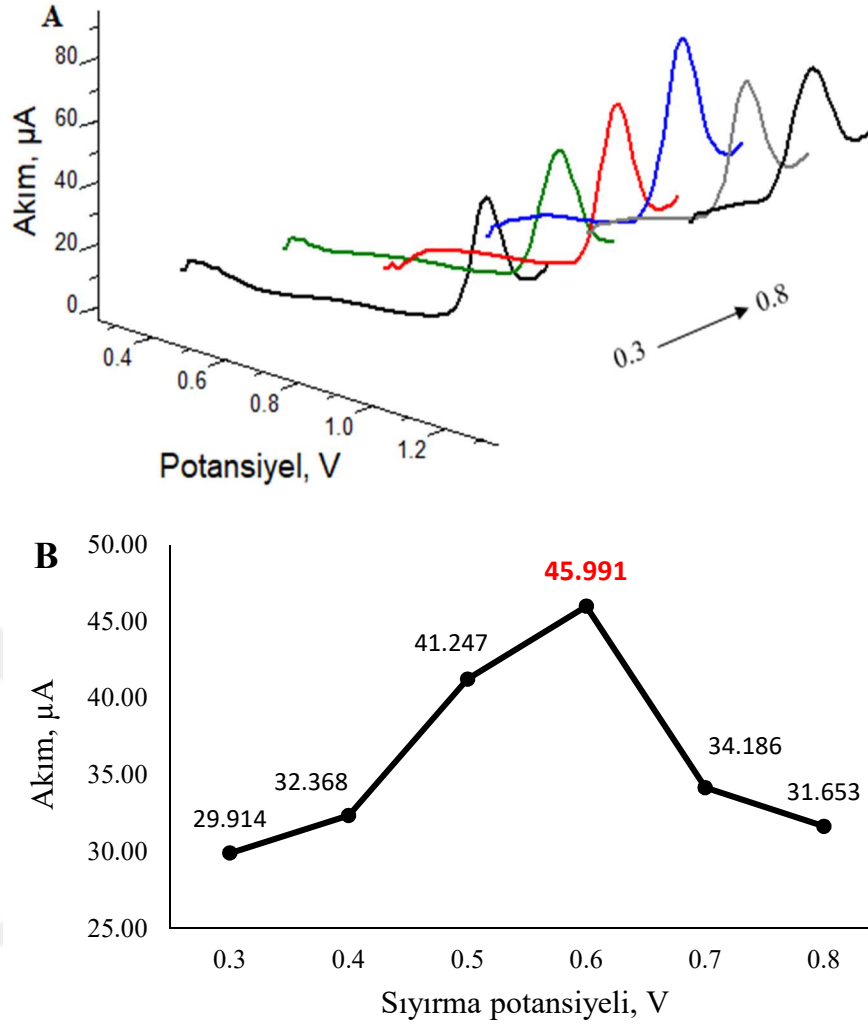


Şekil 4.37: Biriktirme potansiyelinin GNS SWSV pik akımına etkisi.

#### 4.2.10.2.Sıyırma potansiyelinin etkisi

Sıyırma potansiyelinin etkisini belirlemek için *p*(3TCA ko 3MTF)/GCE üzerinde 0.5 V potansiyelde 30 saniye biriktirilen GNS; 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 ve 0.8 V potansiyellerinde sıyrılarak GNS'nin elektrokimyasal davranışı incelenmiştir. Şekil 4.38(A)'da görülen voltamogramlar ve sonuçları ifade eden şekil 4.38(B)'deki grafikten de anlaşılabacağı gibi en iyi sıyırma potansiyeli 0.6 V olarak tespit edilmiştir.

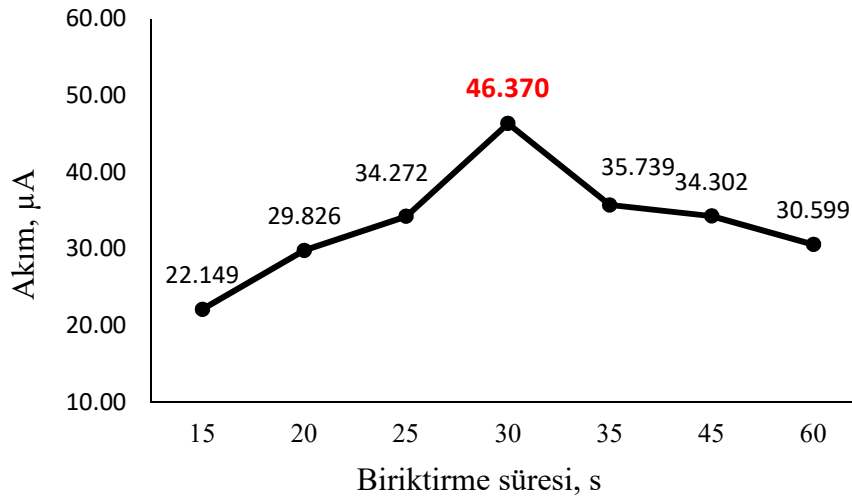
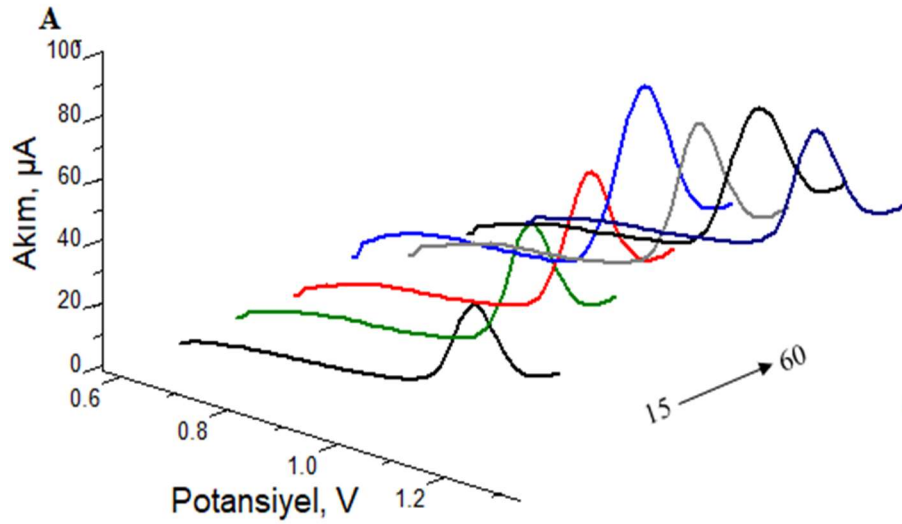




**Şekil 4.38:** Sıyırma potansiyelinin GNS SWSV pik akımına etkisi.

#### 4.2.10.3. Biriktirme süresinin etkisi

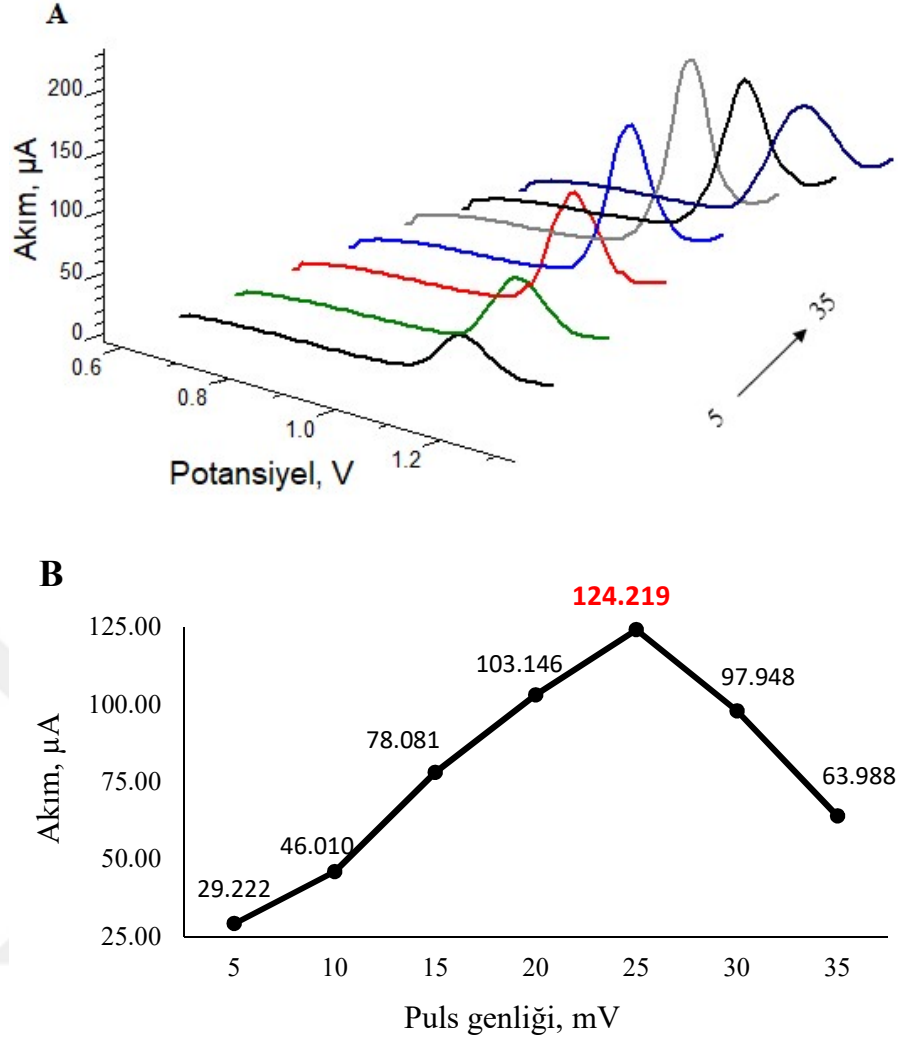
Elektrot üzerinde biriken analit, elektrokimyasal reaksiyon için mevcut analit kütlesini artırır ve buna bağlı olarak pik akımı büyüyerek algılama seviyesinin önemli ölçüde düşmesine yol açar. Bu nedenle biriktirme süresi yaygın olarak kullanılan bir parametredir. Bu çalışmada biriktirme süresinin etkisini belirlemek için *p*(3TCA ko 3MTF)/GCE üzerinde 0.5 V potansiyelde 15, 20, 25, 30, 35, 45 ve 60 s süre ile biriktirme işlemi gerçekleştirilmiş ve SWSV yöntemi kullanılarak 0.6 V potansiyelde sıyırılarak ölçümler gerçekleştirilmiştir. Ölçümlerin sonucuna ait şekil 4.39(A)'da yer alan voltamogramlar ve sonuçları ifade eden şekil 4.39(B)'deki grafiğin incelenmesinden de anlaşılacağı gibi en iyi biriktirme süresi 30 s olarak belirlenmiştir. Daha fazla biriktirme süresinde pik akımının azalması elektrot yüzeyindeki GNS miktarının sınır değerine ulaşıldığını gösterir.



**Şekil 4.39:** Biriktirme süresinin GNS SWSV pik akımına etkisi.

#### 4.2.10.4. Puls genliğinin etkisi

Puls genliğinin voltametrik akım yoğunluğu üzerindeki etkisi 10-35 mV aralığında incelenmiştir. Şekil 4.40(A) ve Şekil 4.40(B)'de de açıkça görüldüğü gibi GNS'nin pik akımı, 25 mV puls genliğine kadar artmış ve bu değerden sonra azalmıştır. Bu nedenle 25 mV'luk puls genliği ile çalışılmasına karar verilmiştir.

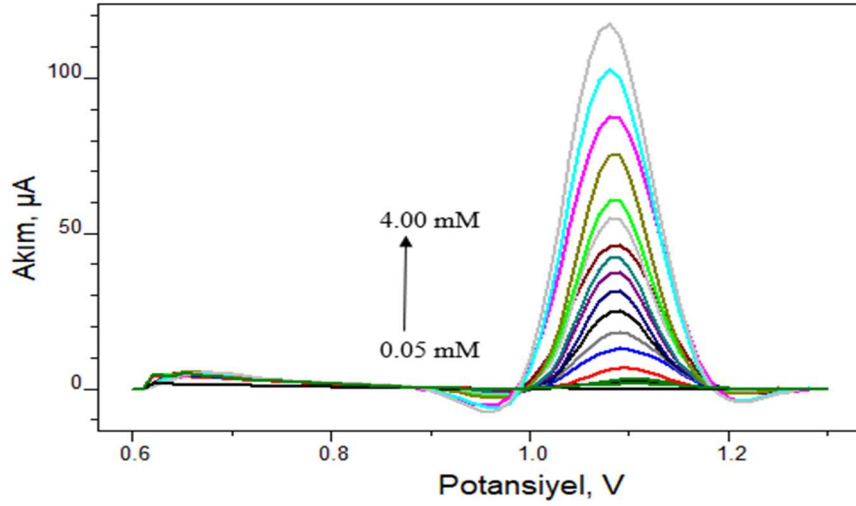


**Şekil 4.40:** Puls genliğinin GNS SWSV pik akımına etkisi.

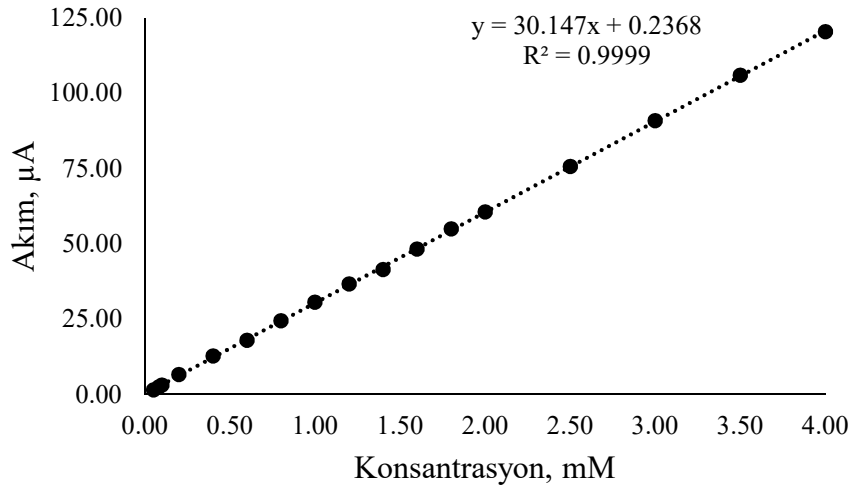
#### 4.2.11. Kalibrasyon grafiği

Yukarıda tespit edilen optimum koşullar altında 0.05-4.00 mM ( 0.05, 0.08, 0.10, 0.20, 0.40, 0.60, 0.80, 1.00, 1.20, 1.40, 1.60, 1.80, 2.00, 2.50, 3.00, 3.50 ve 4.00) konsantrasyon aralığında SWSV yöntemi ile yapılan ölçümler sonucunda elde edilen voltamogramlar şekil 4.41’de görülmektedir.

Bu voltamogramlardaki GNS pik akımları kullanılarak 0.05-4.00 konsantrasyon aralığını içeren kalibrasyon grafiği çizilmiştir. Şekil 4.42’de görülen kalibrasyon grafiğine ait doğru denklemi,  $y=30.147x+0.2368$  ve  $R^2=0.9999$  olarak hesaplanmıştır. Kalibrasyon grafiğinden elde edilen veriler kullanılarak eşitlik (2.4)’teki formüle göre hesaplanan LOD 0.039 mM, eşitlik (2.5)’teki formüle göre hesaplanan LOQ ise 0.129 mM dır.



**Şekil 4.41:** 0.05-4.00 mM konsantrasyon aralığında GNS SWSV voltamogramları.

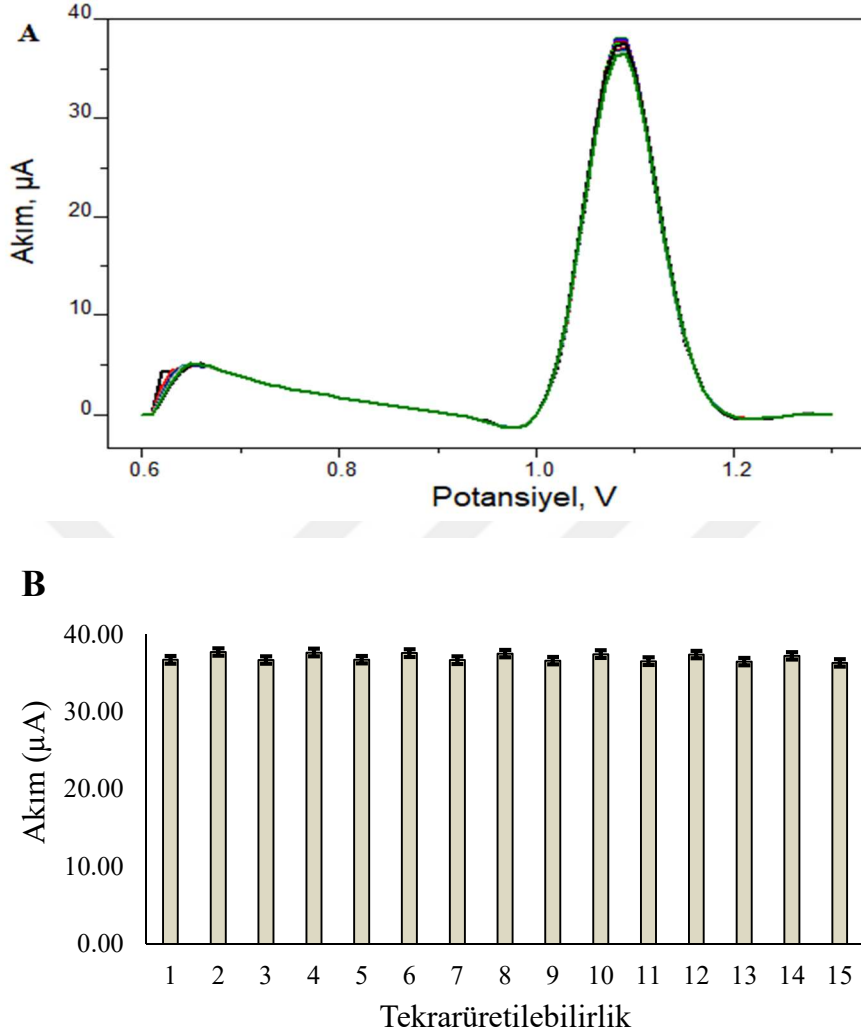


**Şekil 4.42:** GNS' nin 0.05-4.00 mM konsantrasyon aralığında kalibrasyon eğrisi.

#### 4.2.12. Tekrarüretilebilirlik

Bu çalışmada hazırlanan *p*(3TCA ko 3MTF)/GCE sadece bir defa kullanılabilir olduğu, için modifiye edilen aynı elektrotla tekrarlanabilir sonuçlar elde edilememektedir. Bu nedenle *p*(3TCA ko 3MTF)/GCE'nin tekrarüretilebilirliği incelenmiştir. Bu amaç için GCE yukarıda anlatılan optimum şartlarda her defasında yeniden modifiye edilerek hazırlanmıştır. Arka arkaya optimum koşullarda 15 defa hazırlanan *p*(3TCA ko 3MTF)/GCE kullanılarak 1.2 mM konsantrasyonunda GNS'nin elektrokimyasal davranışı SWSV yöntemi ile incelenmiştir. Ölçümler sonucunda ortaya çıkan voltamogramlar şekil 4.43(A)'da görülmektedir. Voltamogramlar ve şekil 4.43(B)'deki bar grafiğindeki veriler kullanılarak, standart sapma 0.48 ve % bağıl standart sapma ise

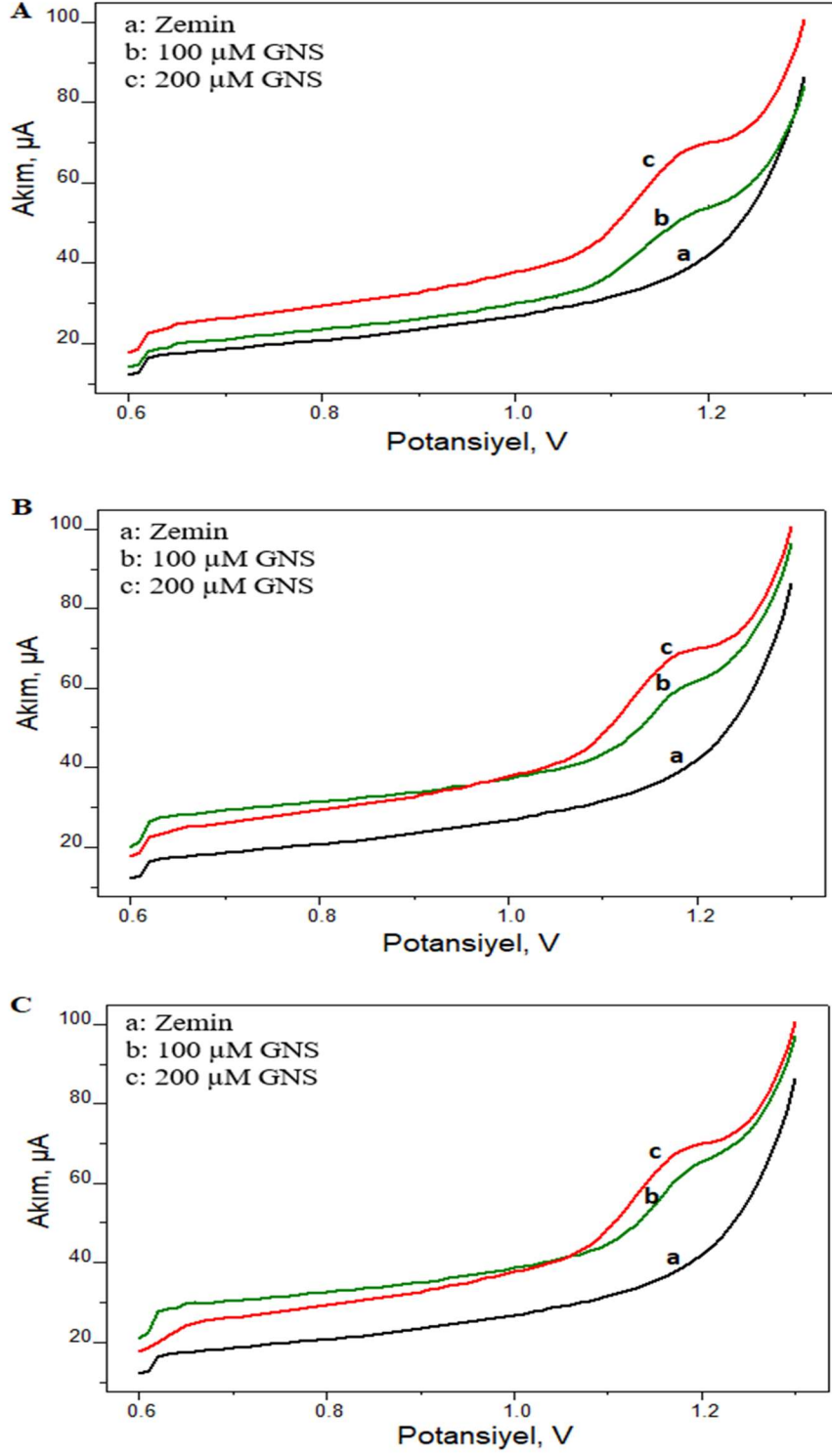
1.31 olarak hesaplanmıştır. Bu değerler göz önüne alındığında, yöntemin tekrarlanabilir, son derece kararlı ve duyarlı (% 98,69) olduğu görülmektedir.



**Şekil 4.43:** *p*(3TCA ko 3MTF)/GCE' nin tekrarüretilebilirliği.

#### 4.2.13. *p*(3TCA ko 3MTF)/GCE ile sentetik idrarda gentamisin tayini

Vücuda alınan GNS'nin yaklaşık olarak %80'lik kısmı vücudumuzdan idrar yoluyla atılmaktadır. Bu nedenle geliştirilen yöntemin sentetik idrarda GNS tayini standart ekleme metodu ile test edilmiştir. Bunun için bölüm 3.6'da belirtildiği şekliyle sentetik idrar çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan bu idrar çözeltisinden 1 mL alınıp SitT (pH=2.00) ile 5 mL'ye tamamlanmış (1:4) ve hazırlanan bu çözeltinin pH'sı da 2.00'a ayarlanmıştır. Bu şekilde hazırlanan 3 seri çözeltinin her birinin SWSV voltamogramı alındıktan sonra içerisine sırasıyla 100 ve 200 µM GNS ilavesi yapılmış ve her ilaveden sonra SWSV metodu ile ölçümler gerçekleştirilmiştir. Yapılan ölçümler sonucunda elde edilen voltamogramlar şekil 4.44(A, B ve C)'de görülmektedir.



**Şekil 4.44:** *p*(3TCA ko 3MTF)/GCE ile sentetik idrarda GNS tayini.

Ölçümler sonucunda bulunan konsantrasyon kullanılarak geri kazanım verimleri eşitlik (2.2) kullanılarak hesaplanmıştır. Hesaplanan % geri kazanım verimleri incelendiğinde 100 µM ilave için % 97.35-% 98.66, 200 µM ilave için % 99.59-% 100.42 oranlarında geri kazanım verimi elde edildiği Çizelge 4.5’de görülmektedir. Sonuçlardan, *p*(3TCA

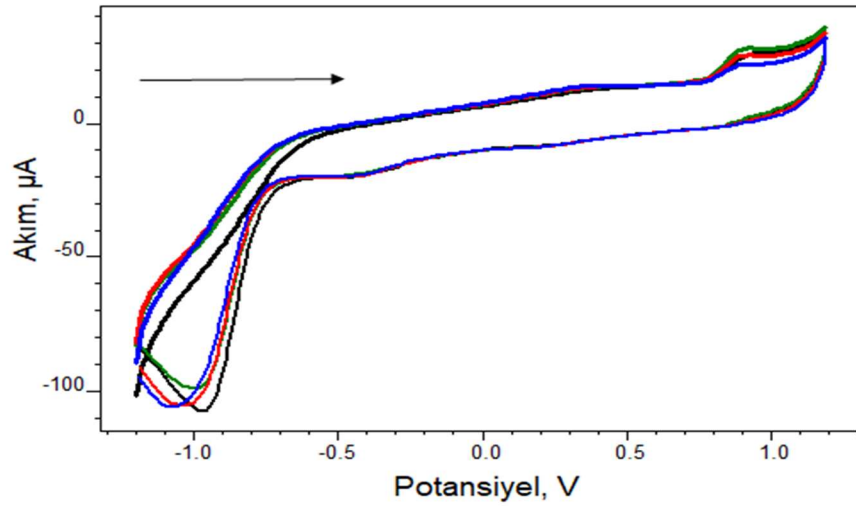
ko 3MTF)/GCE' nin sentetik idrar çözeltisinde GNS'yi çok iyi kararlılık ve duyarlılıkla tayin ettiği görülmektedir.

**Çizelge 4-4: GNS % Geri kazanım verimi**

| Eklenen miktar ( $\mu\text{M}$ ) | Bulunan miktar ( $\mu\text{M}$ ) |                          |                          | Geri Kazanım Verimi (%) |            |            | Standart sapma |
|----------------------------------|----------------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|------------|------------|----------------|
|                                  | Seri 1 ( $\mu\text{M}$ )         | Seri 2 ( $\mu\text{M}$ ) | Seri 3 ( $\mu\text{M}$ ) | Seri 1 (%)              | Seri 2 (%) | Seri 3 (%) |                |
| 100.00                           | 97.35                            | 98.66                    | 98.40                    | 97.35                   | 98.66      | 98.40      | $\pm 0.695$    |
| 200.00                           | 199.19                           | 200.84                   | 199.43                   | 99.59                   | 100.42     | 99.71      | $\pm 0.895$    |

#### 4.3. pTSA dop Edilmiş *poli*( $\beta\text{CD}$ ) Kullanarak GNS Tayini

$\beta\text{CD}$ -pTSA monomer karışımlarından oluşan polimerin GNS için iyi yanıt verdiği bölüm 4.2.3.1'de açıklanmıştır.  $\beta\text{CD}$  ve pTSA monomer çözeltileri kullanılarak CV metoduyla (-1.2)-(1.2) V potansiyel aralığında elektropolimerizasyon yöntemiyle oluşturulan polimerde sadece  $\beta\text{CD}$  elektropolimerleşme yaparak pTSA ile konuk-konakçıl (host-guest) etkileşimi ile GNS'nin elektrot yüzeyinde kümülasyonunu artıracak iletken karakterli bir film yapısı oluşmuştur.  $\beta\text{CD}$  ve pTSA monomerlerinin karışım çözeltisine ait polimerleşme voltamogramı şekil 4.45'da görülmektedir.

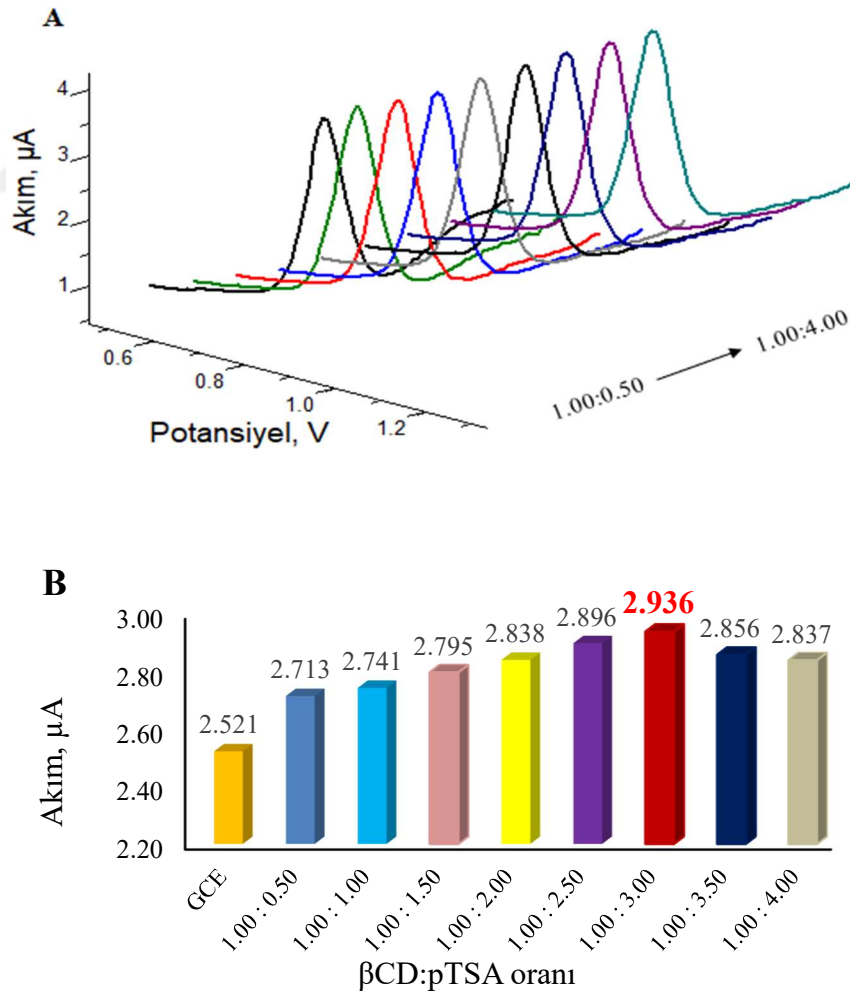


**Şekil 4.45:  $\beta\text{CD}$  ve pTSA polimerleşme voltamogramı.**

### 4.3.1. Elektrot modifikasyonu

#### 4.3.1.1. Monomer oranının etkisi

$\beta$ CD:pTSA monomer çözeltilerinin oranının etkisini incelemek için  $\beta$ CD monomer çözeltisi 1 mM'da sabit tutularak pTSA konsantrasyon oranı değiştirilerek farklı oranlardaki monomer çözeltileri (1.00:0.50, 1.00:1.00, 1.00:1.50, 1.00:2.00, 1.00:2.50, 1.00:3.00, 1.00:3.50 ve 1.00:4.00), 0.1 M FT (pH 7.00) içerisinde hazırlanmıştır. Hazırlanan bu monomer çözeltileri ile (-1.2)-(1.2) V potansiyel aralığında, 100 mV/s tarama hızı ve 4 döngü koşullarında CV yöntemi kullanılarak GCE modifiye edilmiştir. Modifiye GCE'ler kullanılarak SWV yöntemi ile GNS'nin elektrokimyasal davranışı incelenmiştir. Şekil 4.46(A)'da görülen voltamogramlar ve şekil 4.46(B)'deki bar grafiği incelendiğinde GNS için en iyi yanıtı 1.00:3.00 oranındaki  $\beta$ CD:pTSA monomer çözeltisinin verdiği görülmüştür. Bu nedenle çalışmanın bundan sonraki kısımlarında monomer oranı olarak 1.00:3.00 oranının kullanılmasına karar verilmiştir.

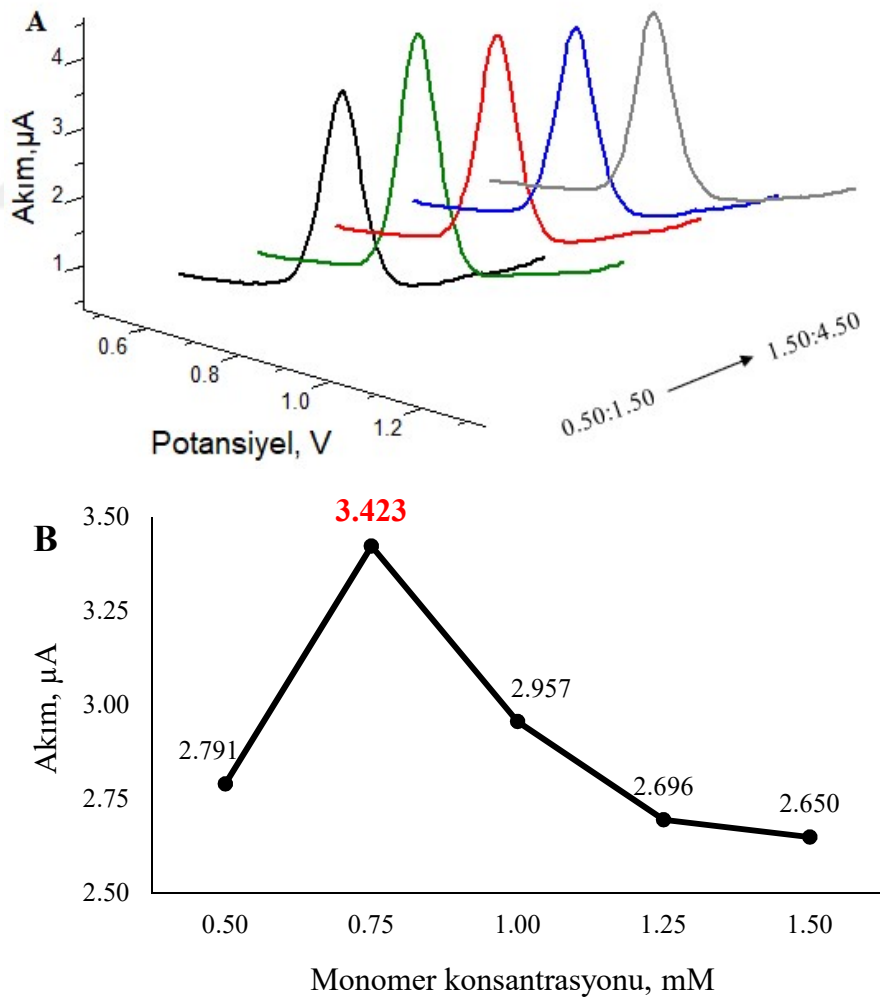


Şekil 4.46:  $\beta$ CD:pTSA monomer oranının GNS SWV pik akımına etkisi.



#### 4.3.1.2. Monomer konsantrasyonunun etkisi

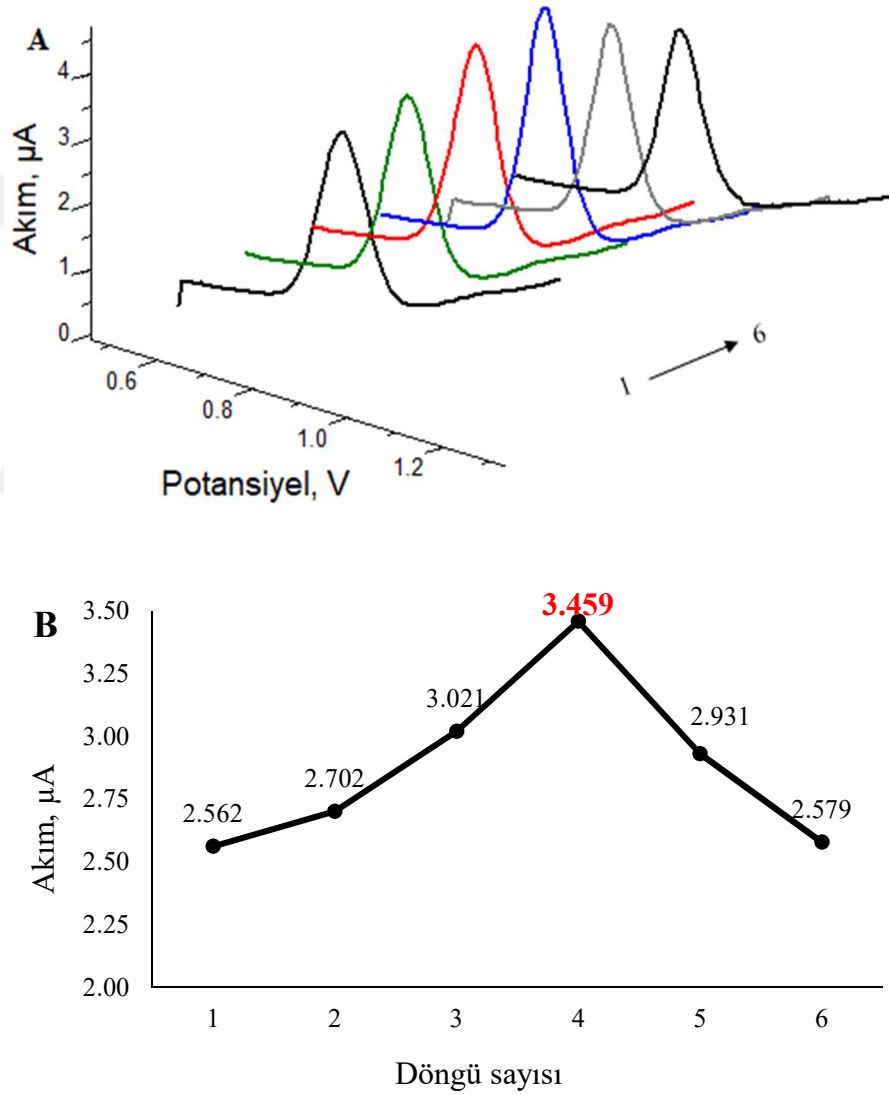
GNS' nin elektrokimyasal davranışı üzerine etki edecek olan en iyi monomer konsantrasyonunu belirlemek açısından yukarıda belirtilen monomer oranı (1.00:3.00) göz önünde bulundurularak farklı konsantrasyonlarda (0.50:1.50, 0.70:2.25, 1.00:3.00, 1.25:3.75 ve 1.50:4.50 mM) monomer çözeltileri hazırlanmıştır. Hazırlanan bu monomer çözeltileriyle CV metodu ile modifiye edilen elektrotlar kullanılarak SWV yöntemi ile ölçümler gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.47 (A ve B)'de yer alan voltamogram ve grafik incelendiğinde en iyi monomer konsantrasyonunun 0.75 mM  $\beta$ CD ve 2.25 mM pTSA olduğu görülmektedir. Sonuçlar incelendiğinde konsantrasyon artışıyla beraber GNS'ye ait pik akımı yüksekliğinin 0.75 mM  $\beta$ CD ve 2.25 mM pTSA'ya kadar arttığı, monomer konsantrasyonunun daha fazla artırılmasıyla beraber GNS pik akımının azalmaya başladığı görülmüştür. Elektrot yüzeyinde daha fazla polimer birikmesinin pik akımının küçülmesine yol açtığı düşünülmektedir.



Şekil 4.47: Monomer konsantrasyonunun GNS SWV pik akımına etkisi.

#### 4.3.1.3. Film kalınlığının etkisi

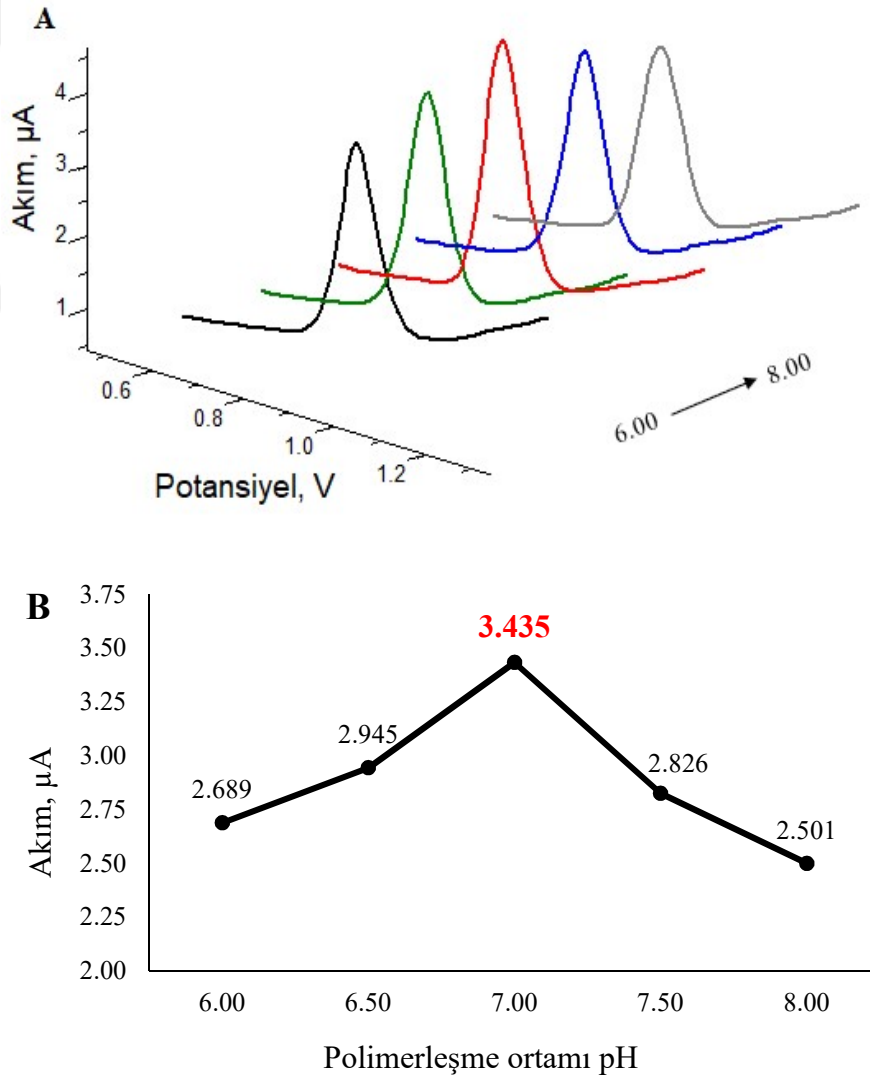
Film kalınlığının etkisi CV yönteminde döngü sayısı değiştirilerek araştırılmıştır. Bu işlem için CV metodu ile 1, 2, 3, 4, 5 ve 6 döngülük filmler oluşturularak GCE modifiye edilmiştir. Modifiye edilen elektrotların GNS'nin elektrokimyasal davranışı üzerine etkisi SWV yöntemi ile incelenmiş olup şekil 4.48(A)'da yer alan voltamogramlar ve şekil 4.48(B)'deki grafiğin incelenmesi sonucunda da görülebileceği gibi en iyi pik akımı 4 döngülük film ile elde edilmiştir. 5. döngüden sonra modifiye edilen elektrot yüzeyinde filmin kalınlaşmasına bağlı olarak GNS pik akımının azaldığı görülmüştür.



Şekil 4.48: Film kalınlığının GNS SWV pik akımına etkisi.

#### 4.3.1.4. Polimerleşme ortamı pH'sının etkisi

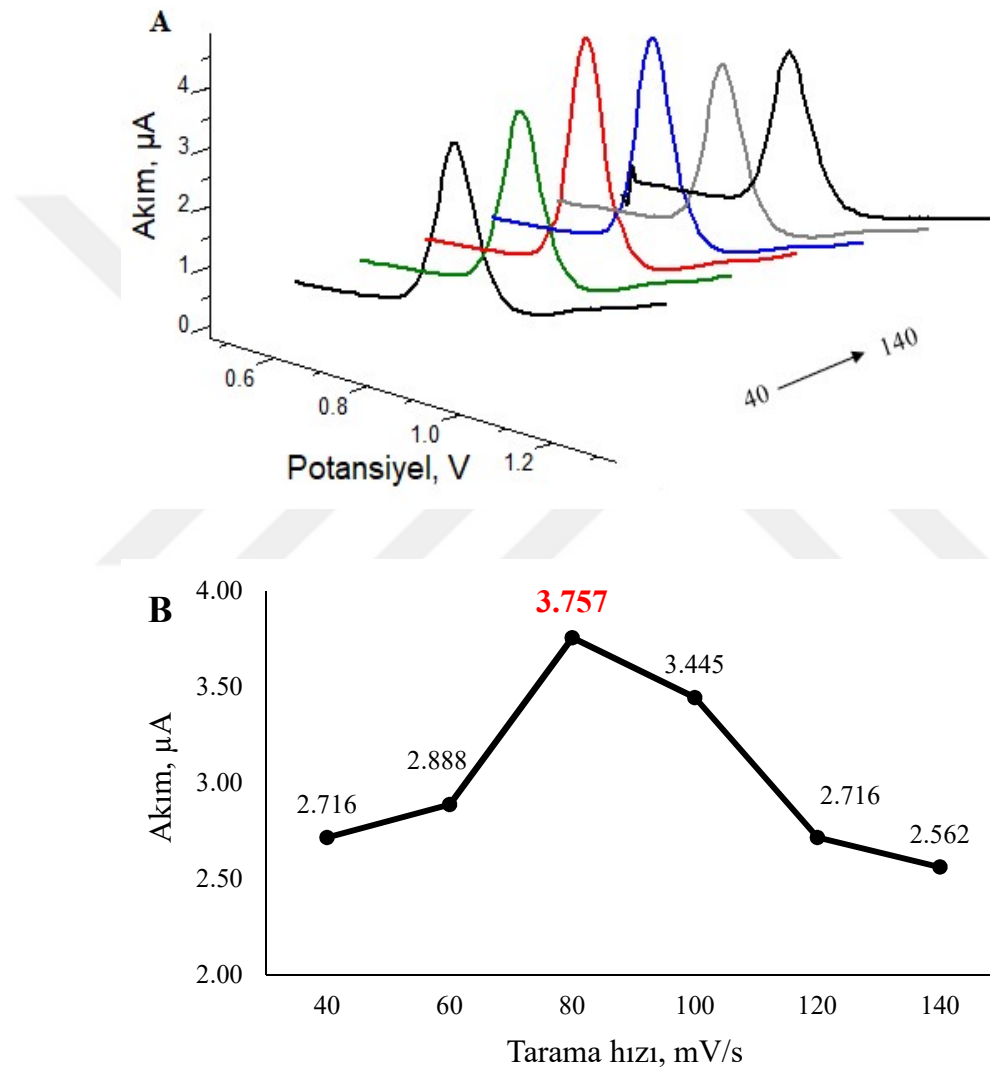
Monomer olarak kullanılan  $\beta$ CD ve pTSA'nın her ikisinde sulu ortamda çözünmektedir. Çalışmanın buraya kadar olan kısmında monomer çözeltisi pH'sı 7.00 olan FT içerisinde hazırlanmıştır. Polimerleşme ortamının pH etkisini incelemek için değişik pH'larda (6.00, 6.50, 7.00, 7.50 ve 8.00) 0.75 mM  $\beta$ CD ve 2.25 mM pTSA monomerlerinin karışımından oluşan çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan bu monomer çözeltileri kullanılarak yukarıda optimize edilen şartlarda GCE CV yöntemiyle modifiye edilmiştir. Modifiye edilen elektrotlar ile GNS'nin elektrokimyasal davranışı SWV metodu ile incelenmiş olup şekil 4.49 (A ve B)'de yer alan voltamogramlar ve grafiğin incelenmesinden de anlaşılabileceği gibi en iyi pik akımı pH'ı 7.00 olan monomer çözeltisi ile elde edilmiştir.



Şekil 4.49: Polimerleşme ortamının pH'sının GNS SWV pik akımına etkisi.

#### 4.3.1.5. Tarama hızının etkisi

Tarama hızının etkisini belirlemek için GCE yüzeyinde 40, 60, 80, 100, 120 ve 140 mV/s tarama hızlarında 4 döngüden oluşan filmler oluşturulmuştur. Modifiye edilen elektrotlar ile GNS'nin elektrokimyasal davranışı SWV metodu ile incelenmiş olup şekil 4.50(A ve B)'de yer alan voltamogramlar ve grafiğin incelenmesinden de anlaşılabileceği gibi en iyi pik akımı 80 mV/s tarama hızı ile oluşturulan film ile elde edilmiştir.



Şekil 4.50: Tarama hızının GNS SWV pik akımına etkisi.

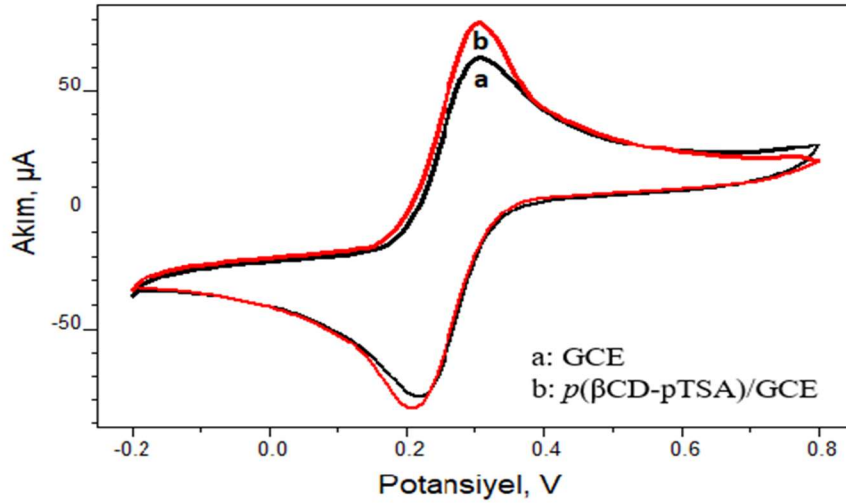
#### 4.3.2. Elektrokatalitik aktivite

Çıplak GCE ve yukarıda anlatılan optimum şartlar ile modifiye edilen GCE'nin CV metodu ile (-0.2)-(0.8) V potansiyel aralığında 1 M KNO<sub>3</sub> içinde 6 mM K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]'nın elektrokimyasal yanıtına ait voltamogramlar şekil 4.51'de ve bu voltamogramlardaki pik

akımları çizelge 4.5’ de gösterilmiştir. Çizelgedeki pik akımlarından da anlaşılabacağı gibi pTSA dop edilmiş  $p(\beta\text{CD})/\text{GCE}$ , çıplak GCE’ ye göre çok daha iyi bir elektrokatalitik aktivite sergilemiştir.

**Çizelge 4-5:** GCE ve pTSA dop edilmiş  $p(\beta\text{CD})/\text{GCE}$ ’nin elektrokatalitik aktivitesine ait pik akımları.

| Elektrot                                        | Yükseltgenme   |                        | İndirgenme     |                        |
|-------------------------------------------------|----------------|------------------------|----------------|------------------------|
|                                                 | Potansiyel (V) | Akım ( $\mu\text{A}$ ) | Potansiyel (V) | Akım ( $\mu\text{A}$ ) |
| GCE                                             | 0.31           | 69.153                 | 0.21           | 31.345                 |
| pTSA dop edilmiş $p(\beta\text{CD})/\text{GCE}$ | 0.31           | 82.829                 | 0.21           | 38.067                 |

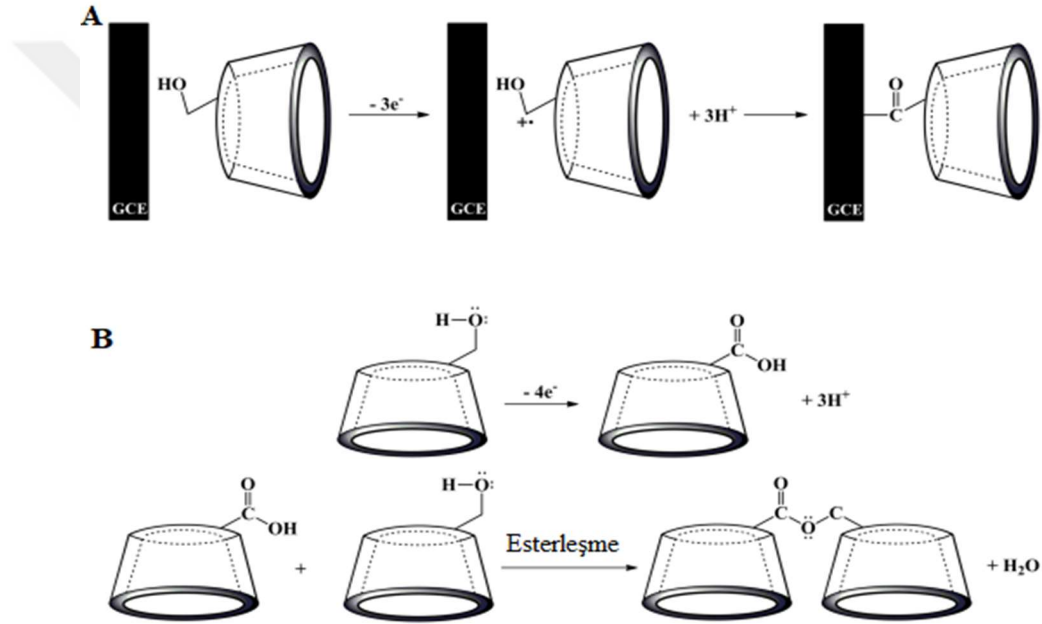


**Şekil 4.51:** pTSA dop edilmiş  $p(\beta\text{CD})/\text{GCE}$ ’nin elektrokatalitik aktivitesi.

#### 4.3.3. pTSA dop edilmiş $p(\beta\text{CD})/\text{GCE}$ ’nin polimerleşme mekanizması

Bu çalışmada pTSA destek elektrolit görevi görmekte olup elektropolimerleşmeye katılmamıştır. Sadece  $\beta\text{CD}$  elektropolimerizasyon şartları dahilinde elektropolimerleşme yaparak konuk-konaklı (host-guest) etkileşimi ile GNS’nin elektrot yüzeyinde kümülasyonunu arttıracak iletken karakterli bir film yapısı vermiştir.  $\beta\text{CD}$ ’ye ait elektropolimerizasyon mekanizmasının iki basamakta gerçekleştiği düşünülmektedir. Birinci basamakta, literatüre göre, bir elektrokimyasal potansiyel uygulayarak,  $\beta\text{CD}$ ’yi kısmen oksitlemek mümkündür. Bu oksidasyon sadece molekülün polarizasyonuna neden olmakla kalmaz, aynı zamanda hidroksil grubunu taşıyan karbon üzerinde radikal

bir katyon da oluşturur. Bu aktif merkez, bir keton oluşturarak kovalent bir bağ yoluyla CGE yüzeyi ile etkileşime girer. Bu nedenle,  $\beta$ CD monomeri CGE'nin yüzeyine bırakılır, bu aşama Şekil 4.52(A)'da gösterilmiştir. İkinci basamakta  $\beta$ CD oksitlendiğinden, birincil hidroksiller oksidasyona karşı daha hassas hale gelir. Literatüre göre, bir birincil hidroksilin oksidasyonu bir karboksilik asit ve/veya aldehid üretir. İşlemde oluşan radikal katyonlar, bir dimer oluşturmak için birbirleriyle reaksiyona girebilir. Bir hipotez, esterleşme olarak bilinen reaksiyonun, bir dimer oluşturan birincil hidroksil (-OH) ile karboksilik asit (-COOH) arasında gerçekleşmesidir. Böylece, monomerlerin birleşmesi art arda büyüyen bir zincire yol açar. Bu elektropolimerizasyon aşaması için önerilen mekanizma Şekil 4.52(B) 'de gösterilmiştir [68-69].



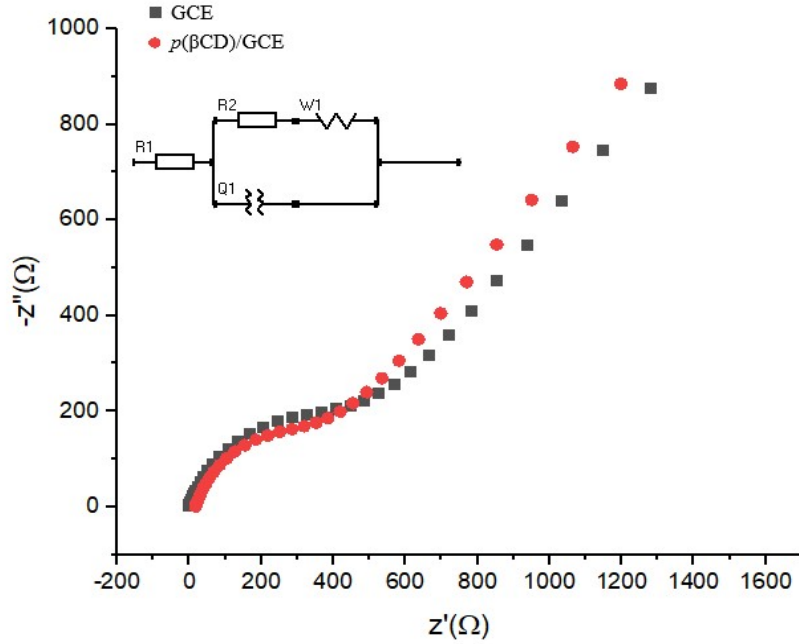
**Şekil 4.52:**  $\beta$ CD elektropolimerizasyon mekanizması.

Bu çalışmada oluşan film içinde kalan pTSA dopant etki yaparak filmin iletkenliğinde artışa ve film yapısında elektron transferini güçlendirici bir etkiye yol açmıştır [70]. Sonuç olarak elde edilen sensör hem GNS'ye karşı duyarlı, hemde elektron transferini hızlı gerçekleştirdiği için etkili bir sensör olarak öne çıkmaktadır.

#### 4.3.4. Empedans ölçümleri

Empedans spektroskopisi yöntemi, elektrot modifikasyonundan sonra arayüz özellikleri hakkında ayrıntılı bilgi verir. Şekil 4.53, pTSA dop edilmiş  $p(\beta$ CD)/GCE yüzeyi modifikasyonundan sonra yük transfer direncinde bir azalma gösteren EIS ölçümlerini göstermektedir. Empedans spektrumu, şekil 4.57'de gösterilen eşdeğer devre kullanılarak

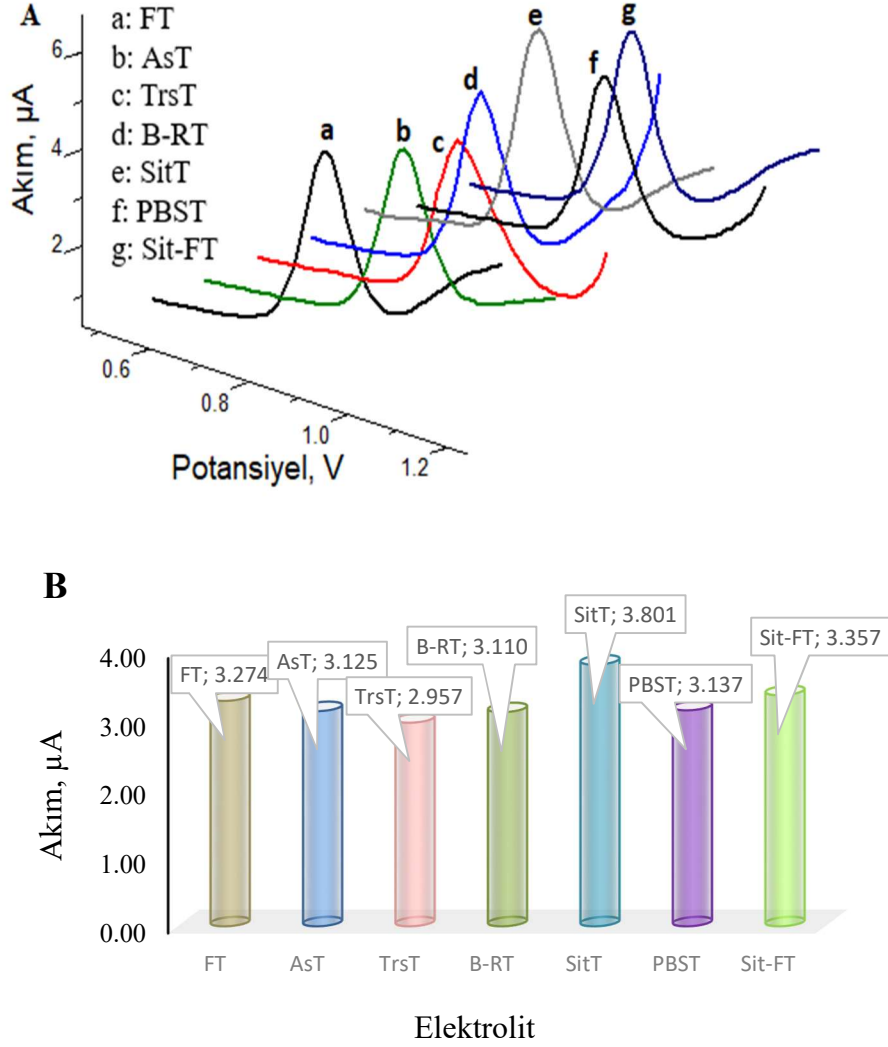
yerleştirildi. pTSA dop edilmiş  $p(\beta\text{CD})/\text{GCE}$ , çıplak GCE ile karşılaştırıldığında daha düşük bir yük transfer direnci gösterdi. Bu sonuçlar, elektrot yüzeyinde biriken tabaka nedeniyle elektron transferinin hızlanmasıyla açıklanabilir.



**Şekil 4.53:** GCE ve pTSA dop edilmiş  $p(\beta\text{CD})/\text{GCE}$  empedans ölçümleri.

#### 4.3.5. Destek elektrolit etkisi

Her biri 0.1 M ve pH'sı 7.00 olan FT, AsT, TrsT, B-RT, SitT, PBST ve Sit-FT çözeltileri içerisine 4 mM konsantrasyonunda GNS stok çözeltisinden ilave edilmiştir. Hazırlanan bu çözeltiler kullanılarak pTSA dop edilmiş  $p(\beta\text{CD})/\text{GCE}$  ile SWV yöntemi ile ölçümler alınmıştır. Ölçüm sonucunda elde edilen ve şekil 4.54(A)'da yer alan voltamogramlar ve şekil 4.54(B)'deki bar grafiğin incelenmesinden de anlaşılabacağı gibi GNS en iyi elektrokimyasal davranışı SitT içerisinde sergilemiştir.



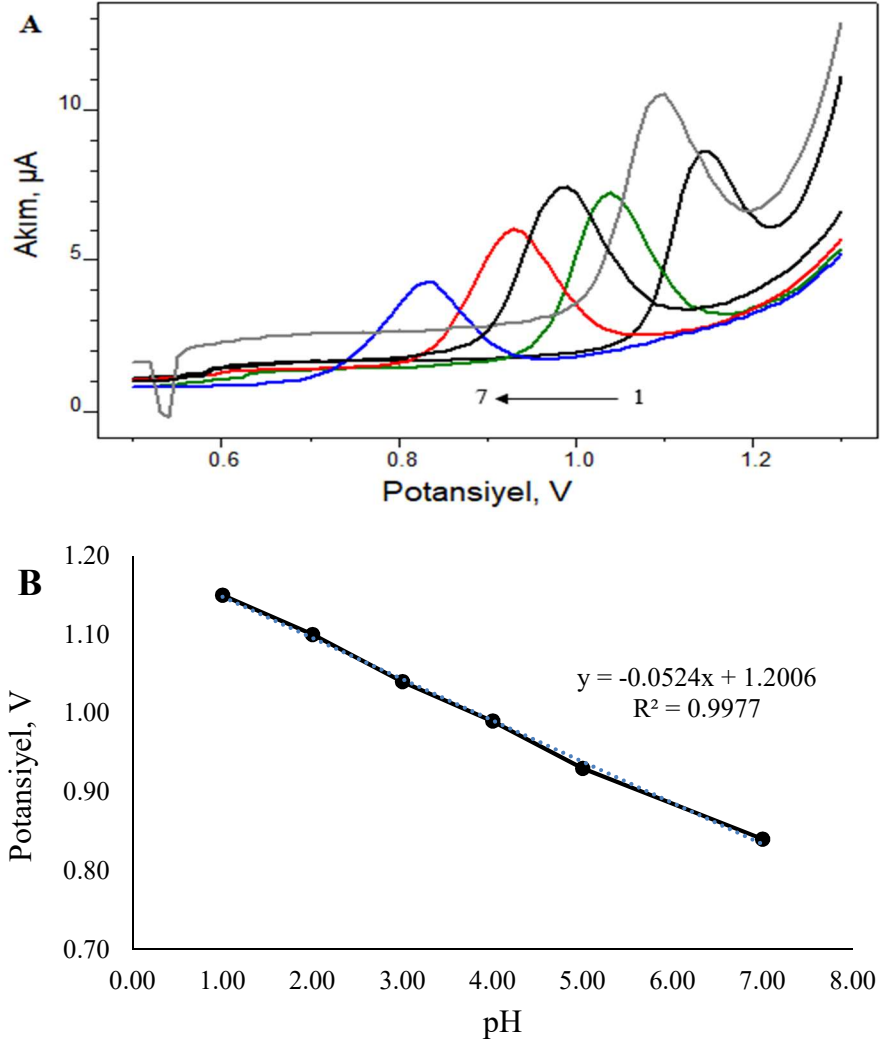
**Şekil 4.54:** Destek elektrolit türünün GNS' nin SWV pik akımına etkisi.

#### 4.3.6. Destek elektrolitin pH etkisi

Destek elektrolitin pH değeri, analiz edilen maddelerin elektrokimyasal davranışını etkileyen önemli bir faktördür. Bu nedenle GNS'nin en iyi elektrokimyasal davranış sergilediği SitT'nin pH'sının pik potansiyeli ( $E_p$ ) üzerindeki etkisi 1.00-7.00 aralığında araştırılmıştır. Artan pH ile, pik potansiyeli şekil 4.55(A)'da görüldüğü gibi negatif değerlere doğru kaymıştır. Şekil 4.55(B)'de yer alan pik potansiyeli ve pH arasındaki ilişki doğrusaldır ve aşağıdaki gibi formüle edilebilir.

$$E_p = 1.2006 - 0.052 \text{pH} \quad (R^2 = 0.9977) \quad (4.3)$$

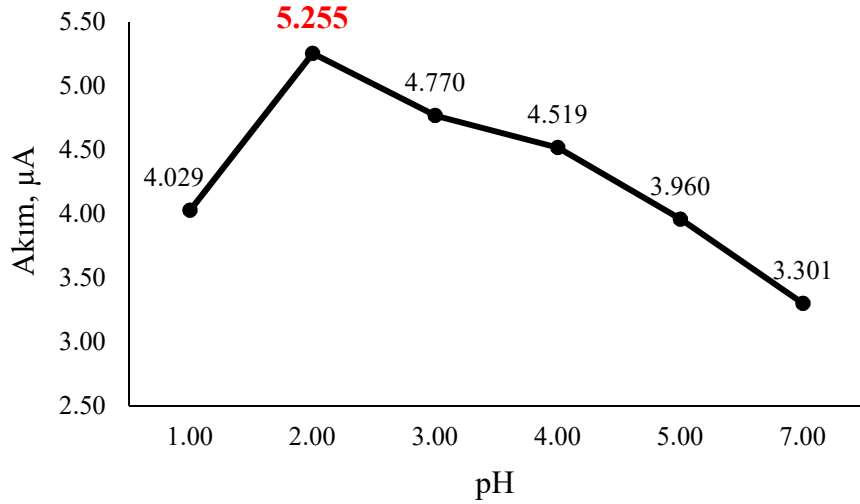




**Şekil 4.55:** GNS SW voltamogramı (A), pH-potansiyel grafiği (B).

pH-Potansiyel grafiğinin eğimi olan 52 mV, pTSA dop edilmiş  $p(\beta\text{CD})/\text{GCE}$ 'nin GNS'nin eşit proton ve elektron oksidasyon sürecine karşılık gelen teorik Nernst eşitliğindeki 59 mV değerine yakındır.

Daha sonra, 1.00-7.00 aralığındaki pH'ın, GNS'nin pik akımı üzerindeki etkisi de araştırıldı. Elde edilen sonuçlardan, pik akımının pH 2.00'de maksimum değere ulaştığı ve daha sonra tekrar azalmaya başladığı görüldü (Şekil 4.56). Bu sonuçlar doğrultusunda GNS'nin en iyi elektrokimyasal davranışını elde etmek açısından çalışmanın bundan sonraki kısımlarında, pH'sı 2.00 olan SitT'nin kullanılmasına karar verilmiştir.



**Şekil 4.56:** Destek elektrolit pH'sının GNS SWV pik akımına etkisi.

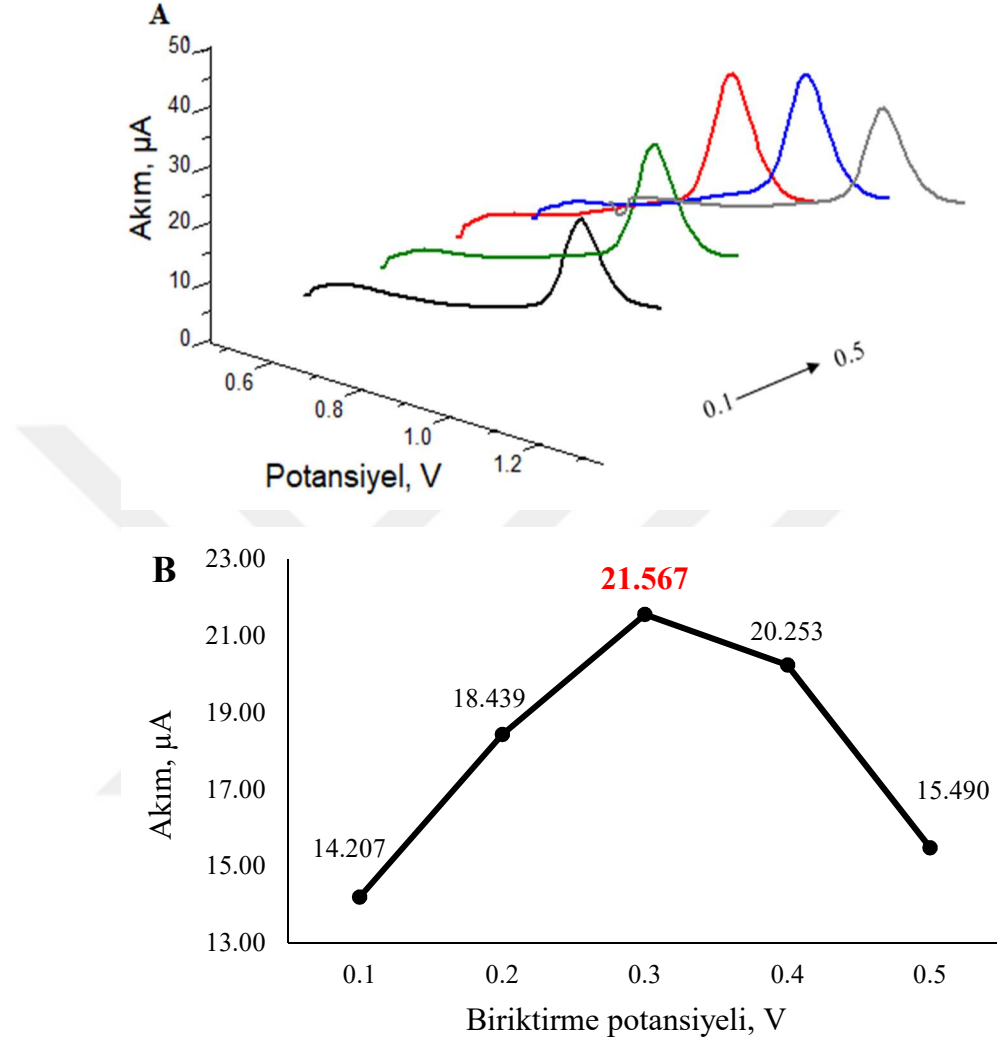
#### 4.3.7. SWV analiz parametrelerinin etkisi

Analitin mevcut yanıtını etkileyebilecek SWV parametrelerinin optimizasyonu, voltametrik prosedürün genişletilmesinde önemli bir adımdır. Bu nedenle, biriktirme potansiyeli, sıyırma potansiyeli, biriktirme süresi ve puls genliği gibi parametreler optimize edilmiştir.

##### 4.3.7.1. Biriktirme potansiyelinin etkisi

Çalışmanın bu aşamasına kadar olan kısımlarında SWV yöntemi kullanılmıştır. Bu aşamadan itibaren biriktirme potansiyeli, sıyırma potansiyeli ve biriktirme süresinin etkisini incelemek üzere SWV yönteminin uzantısı olan birikim basamağı dışında SWV yöntemi ile aynı olan SWSV yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde biriktirme adımı, analit elektrot üzerine biriktirilir ve biriken analit daha sonra elektrottan sıyılır. Elektrot üzerinde biriken analit, elektrokimyasal reaksiyon için mevcut analit kütlesini artırır, akımlar daha yüksektir, bu nedenle algılama seviyesi önemli ölçüde düşer. Daha düşük seviyelerde tayin yapabilmek açısından bu özelliğin kullanılması önem arz etmektedir. Bu yöntemde biriktirme potansiyelinin etkisini incelemek için 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 ve 0.5 V potansiyellerinde 30 saniye süre ile biriktirme işlemi gerçekleştirilerek 0.5 V potansiyelde sıyırılarak ölçümler yapılmıştır. Yapılan ölçümlere ait voltamogramlar şekil 4.57(A)'da ve ölçüm sonuçlarını ifade eden grafik şekil 4.57(B)'de yer almaktadır. Söz konusu voltamogram ve grafikte de görüldüğü gibi modifiye elektrot üzerinde biriktirme işleminin GNS'nin elektrokimyasal davranışı üzerine büyük etkisi olmuştur. Farklı

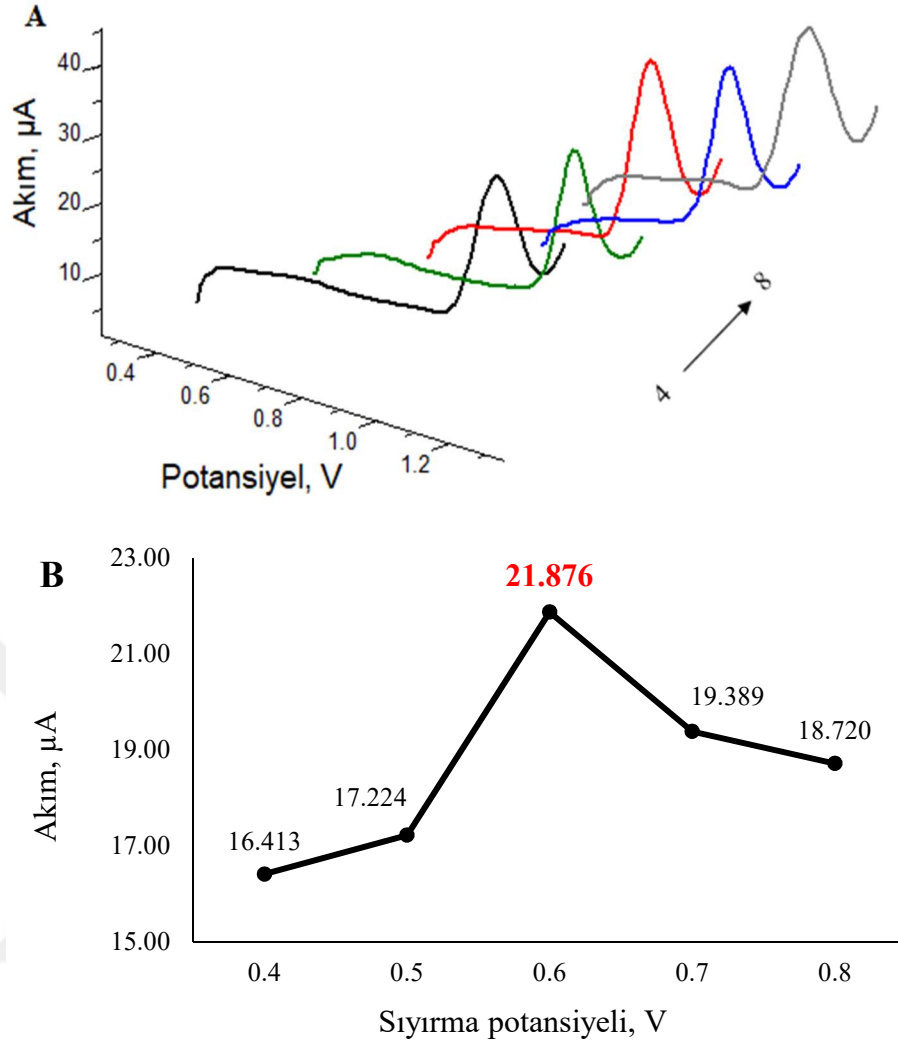
potansiyelerde yapılan biriktirme işlemlerinden ise 0.3 V’da yapılan biriktirme işlemi GNS için en iyi yanıtı sergilemiştir.



Şekil 4.57 Biriktirme potansiyelinin GNS SWSV pik akımına etkisi.

#### 4.3.7.2. Sıyırma potansiyelinin etkisi

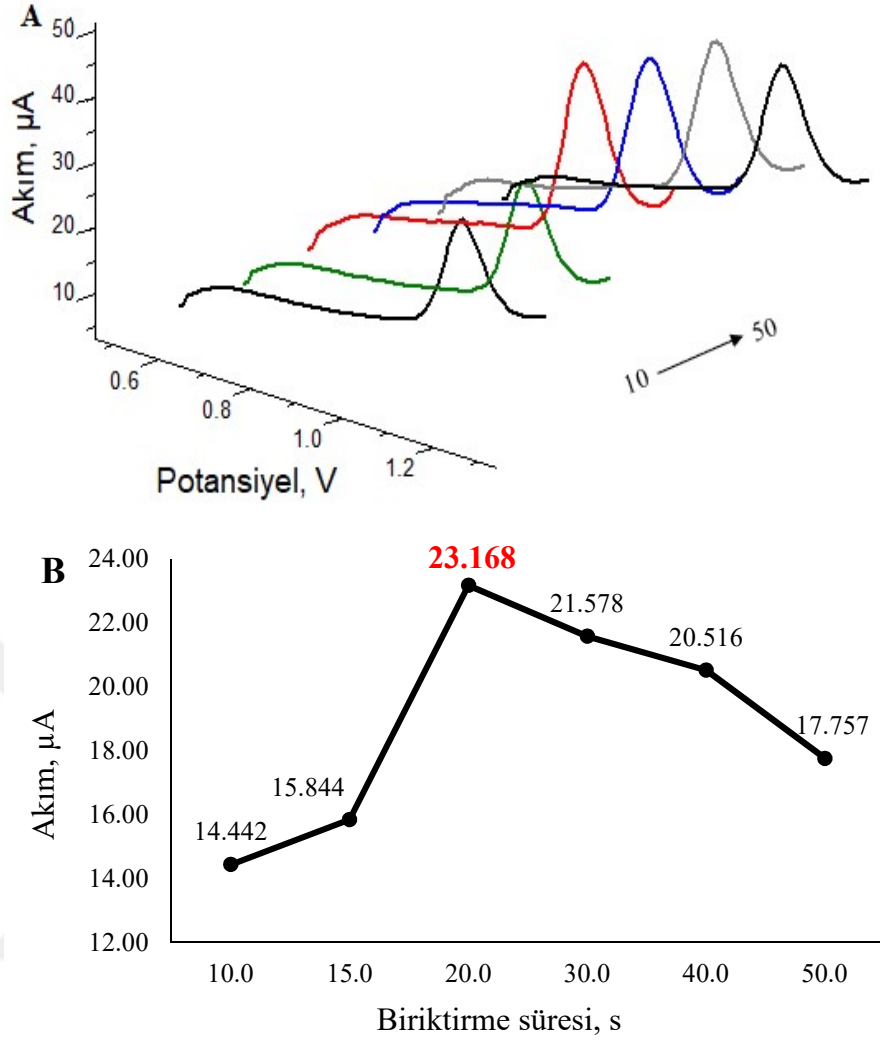
Sıyırma potansiyelinin etkisini belirlemek için pTSA dop edilmiş  $p(\beta\text{CD})/\text{GCE}$  üzerinde 0.5 V potansiyelde 30 saniye biriktirilen GNS; 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 ve 0.8 V potansiyellerinde sıyrılarak GNS’nin elektrokimyasal davranışı incelenmiştir. Şekil 4.58(A)’da görülen voltamogramlar ve sonuçları ifade eden şekil 4.58(B)’deki grafikten de anlaşılabacağı gibi en iyi sıyırma potansiyeli 0.6 V olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4.58: Sıyırma potansiyelinin GNS SWSV pik akımına etkisi.

#### 4.3.7.3. Biriktirme süresinin etkisi

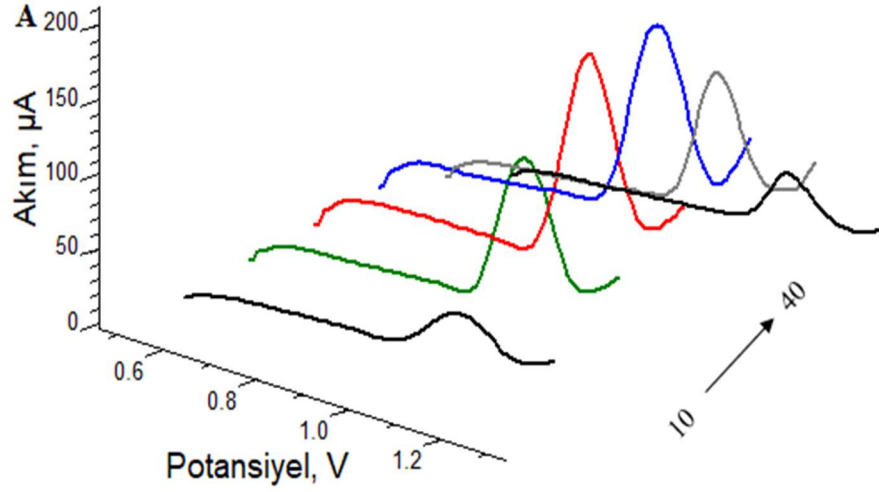
Elektrot üzerinde biriken analit, elektrokimyasal reaksiyon için mevcut analit kütlesini artırır ve buna bağlı olarak pik akımları büyüyerek algılama seviyesinin önemli ölçüde düşmesine yol açar. Bu nedenle biriktirme süresi yaygın olarak kullanılan bir parametredir. Biriktirme süresinin GNS pik akımına etkisini belirlemek için pTSA dop edilmiş  $p(\beta\text{CD})/\text{GCE}$  üzerinde 0.5 V potansiyelde 10, 15, 20, 30, 40 ve 50 s süre ile biriktirme işlemi gerçekleştirilmiş ve SWSV yöntemi kullanılarak 0.6 V potansiyelde sıyrılarak ölçümler gerçekleştirilmiştir. Ölçümlerin sonucuna ait şekil 4.59(A)'da yer alan voltamogramlar ve sonuçları ifade eden şekil 4.59(B)'deki grafiğin incelenmesinden de anlaşılacağı gibi en iyi biriktirme süresi 20 s olarak belirlenmiştir. Daha fazla biriktirme süresinde pik akımının azalması elektrot yüzeyindeki GNS miktarının sınır değerine ulaşıldığını gösterir.



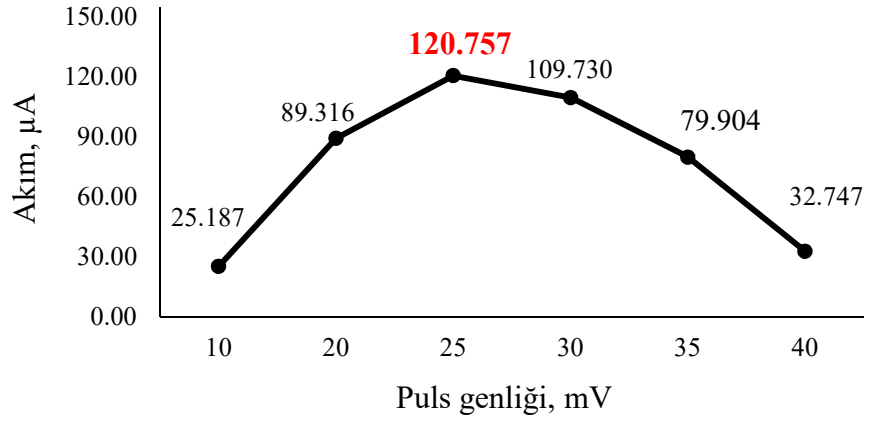
**Şekil 4.59:** Biriktirme süresinin GNS SWSV pik akımına etkisi.

#### 4.3.7.4. Puls genliğinin etkisi

Puls genliğinin voltametrik akım yoğunluğu üzerindeki etkisi 10-40 mV aralığında (10, 20, 25, 30, 35 ve 40) incelenmiştir. Şekil 4.60(A) ve şekil 4.60(B)'de de açıkça görüldüğü gibi GNS'nin pik akımı, 25 mV puls genliğine kadar artmış ve bu değerden sonra azalmıştır. Bu nedenle 25 mV'luk puls genliği ile çalışılmasına karar verilmiştir.



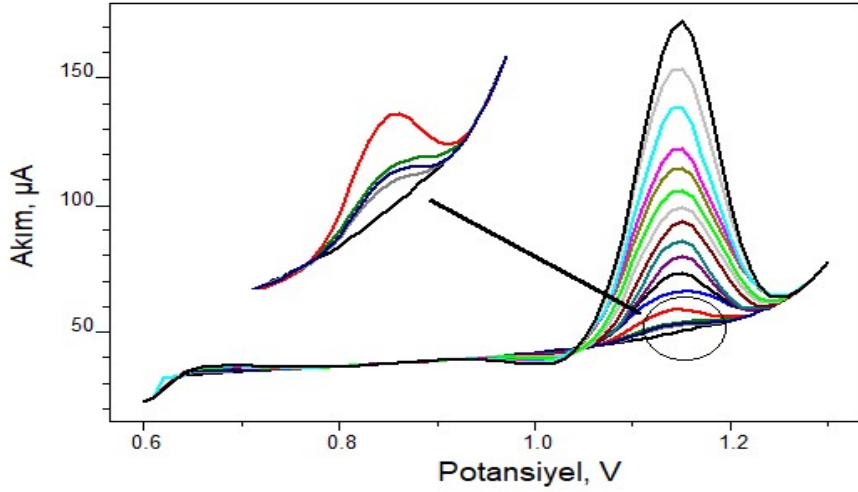
**B**



**Şekil 4.60:** Puls genliğinin GNS SWSV pik akımına etkisi.

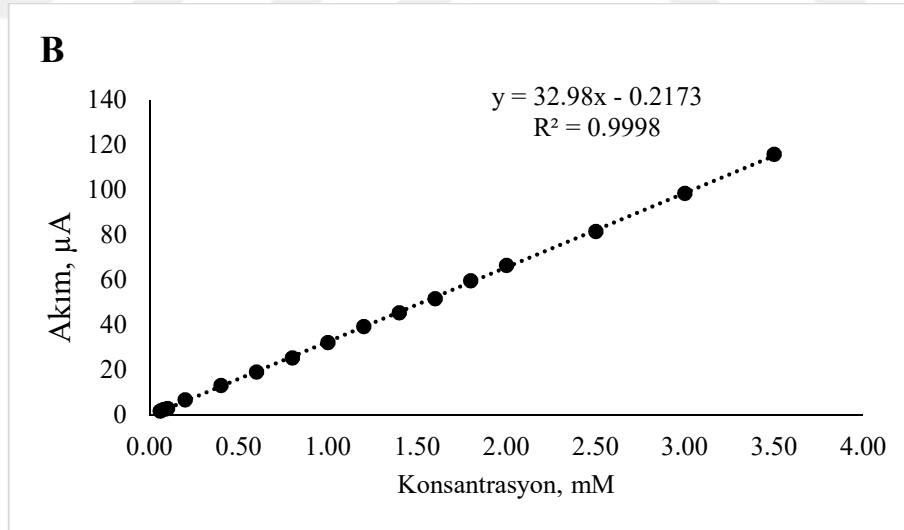
#### 4.3.8. Kalibrasyon grafiği

Yukarıda tespit edilen optimum koşullar altında 0.06-3.50 mM ( 0.06, 0.08, 0.10, 0.20, 0.40, 0.60, 0.80, 1.00, 1.20, 1.40, 1.60, 1.80, 2.00, 2.50, 3.00 ve 3.50) konsantrasyon aralığında SWSV yöntemi ile yapılan ölçümler sonucunda elde edilen voltamogramlar şekil 4.61’de görülmektedir.



**Şekil 4.61:** 0.06 -3.50 mM konsantrasyon aralığında GNS SWSV voltamogramları.

Bu voltamogramlardaki GNS pik akımları kullanılarak 0.06-3.50 mM konsantrasyon aralığını içeren kalibrasyon grafiği çizilmiştir. Şekil 4.62’de görülen kalibrasyon grafiğine ait doğru denklemi,  $y=32.98x+0.2173$  ve  $R^2=0.9998$  olarak hesaplanmıştır. Kalibrasyon grafiğinden elde edilen veriler kullanılarak eşitlik (2.4)’teki formüle göre hesaplanan LOD 0.048 mM, eşitlik (2.5)’teki formüle göre hesaplanan LOQ ise 0.160 mM dir.

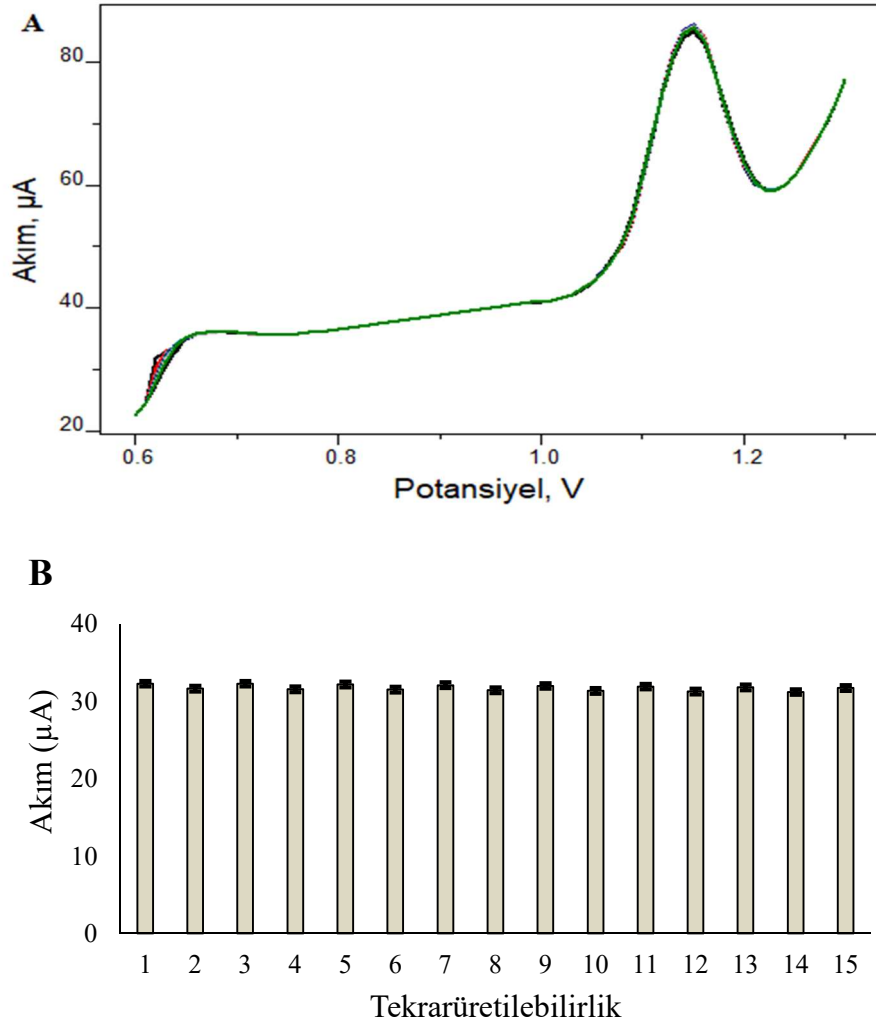


**Şekil 4.62:** GNS’ nin 0.06-3.50 mM konsantrasyon aralığında kalibrasyon eğrisi.

#### 4.3.9. Tekrarüretilebilirlik

Elektrokimyasal olarak modifiye edilen elektrotlar kullanılan polimere ve analite göre değişmekle beraber genellikle bir veya iki defa kullanılabilirler. Bu çalışmada

hazırlanan pTSA dop edilmiş  $p(\beta\text{CD})/\text{GCE}$ 'de tekrar edilebilir sonuç veren bir elektrot değildir. Bu nedenle pTSA dop edilmiş  $p(\beta\text{CD})/\text{GCE}$ 'nin yeniden üretilebilirliği incelenmiştir. Bu amaç için GCE yukarıda anlatılan optimum şartlarda her defasında yeniden modifiye edilerek hazırlanmıştır. Arka arkaya 15 defa hazırlanan pTSA dop edilmiş  $p(\beta\text{CD})/\text{GCE}$  kullanılarak 1.0 mM konsantrasyonunda GNS'nin elektrokimyasal davranışı SWSV yöntemi ile incelenmiştir. Ölçümler sonucunda ortaya çıkan voltamogramlar şekil 4.63(A)'da görülmektedir. Voltamogramlar ve şekil 4.63(B)'deki bar grafikten, standart sapma 0.37 ve % bağıl standart sapma 1.15 olarak hesaplanmıştır. Bu değerler göz önüne alındığında, yöntemin tekrarlanabilir, son derece kararlı ve duyarlı (% 98,85) olduğu görülmektedir.

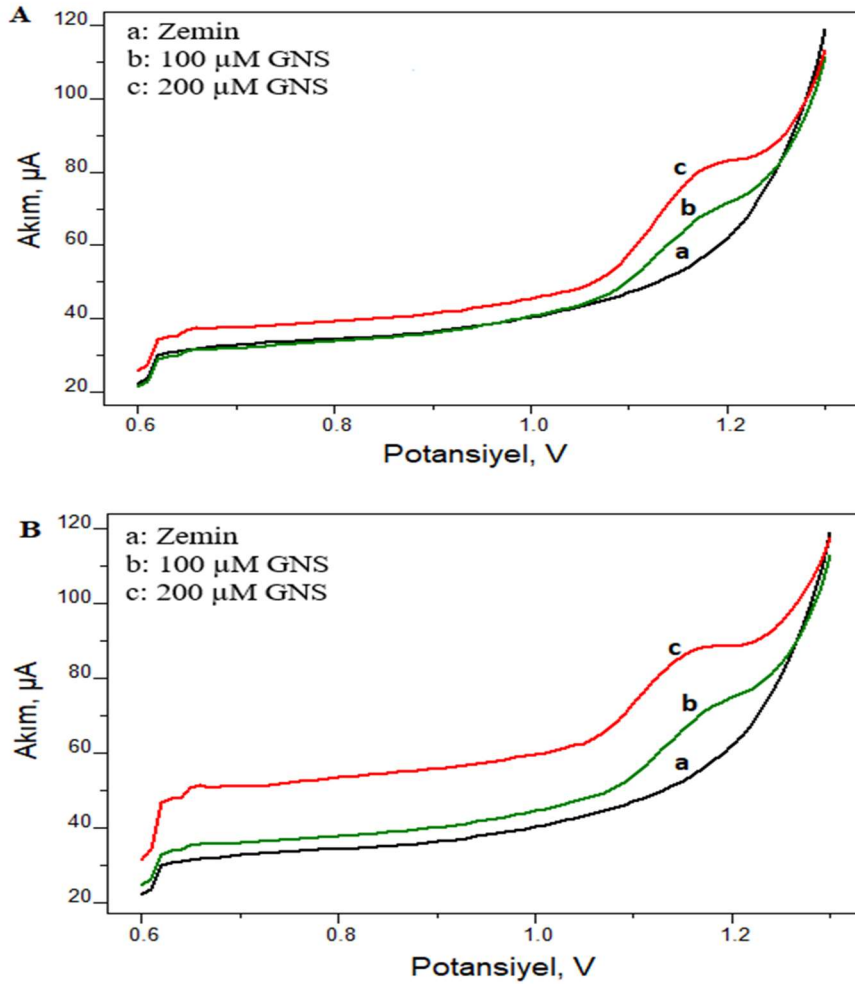


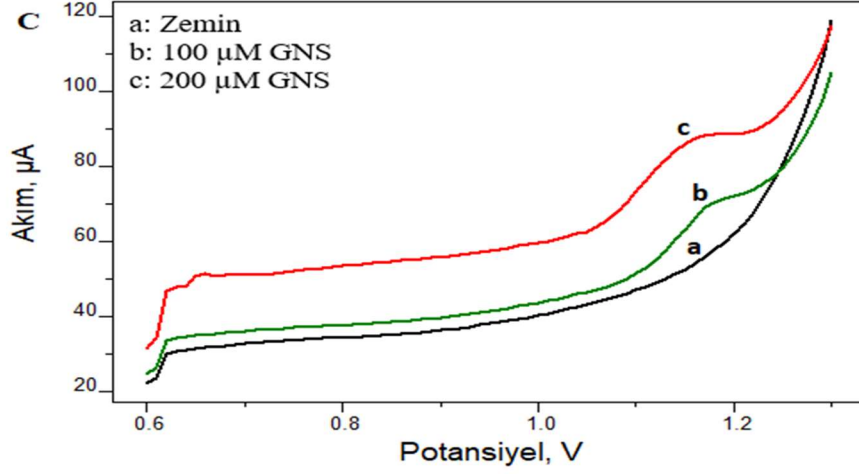
**Şekil 4.63:** pTSA dop edilmiş  $p(\beta\text{CD})/\text{GCE}$ 'nin tekrarüretilebilirliği.



#### 4.3.10. pTSA dop edilmiş $p(\beta\text{CD})/\text{GCE}$ ile sentetik idrarda gentamisin tayini

GNS büyük oranda vücudumuzdan idrar yoluyla atılmaktadır. Bu nedenle geliştirilen yöntemin sentetik idrarda GNS tayini standart ekleme metodu ile test edilmiştir. Bunun için bölüm 3.6’da belirtildiği şekliyle sentetik idrar çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan bu idrar çözeltisinden 1 mL alınıp SitT (pH=2.00) ile 5 mL’ye tamamlanmış (1:4) ve hazırlanan bu çözeltinin pH’sı da 2.00’a ayarlanarak SWS voltamogramları alınmıştır. Bu şekilde hazırlanan 3 seri çözeltinin her birinin üzerine sırasıyla 100 ve 200  $\mu\text{M}$  GNS ilavesi yapılmış ve her ilaveden sonra SWSV metodu ile ölçümler gerçekleştirilmiştir. Yapılan ölçümler sonucunda elde edilen voltamogramlar şekil 4.64(A, B ve C)’de görülmektedir.





**Şekil 4.64:** pTSA dop edilmiş  $p(\beta\text{CD})/\text{GCE}$  ile sentetik idrarda GNS tayini.

Ölçümler sonucunda bulunan konsantrasyon kullanılarak geri kazanım verimleri eşitlik (2.2)'deki denklem kullanılarak hesaplanmıştır.

Hesaplanan % geri kazanım verimleri incelendiğinde 100  $\mu\text{M}$  ilave için % 97.16-% 98.74, 200  $\mu\text{M}$  ilave için % 98.24-% 99.11 oranlarında geri kazanım verimi elde edildiği çizelge 4.6'de görülmektedir pTSA dop edilmiş  $p(\beta\text{CD})/\text{GCE}$ 'nin sentetik idrar çözeltisinde GNS'yi çok iyi kararlılık ve duyarlılıkla tayin ettiği görülmektedir.

**Çizelge 4-6:** GNS % Geri kazanım verimi

| Eklenen miktar ( $\mu\text{M}$ ) | Bulunan miktar ( $\mu\text{M}$ ) |                          |                          | Geri Kazanım Verimi (%) |          |          | Standart sapma |
|----------------------------------|----------------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|----------|----------|----------------|
|                                  | Seri 1 ( $\mu\text{M}$ )         | Seri 2 ( $\mu\text{M}$ ) | Seri 3 ( $\mu\text{M}$ ) | Seri 1 %                | Seri 2 % | Seri 3 % |                |
| 100.00                           | 97.16                            | 98.74                    | 98.38                    | 97.16                   | 98.74    | 98.38    | $\pm 0.832$    |
| 200.00                           | 196.49                           | 198.23                   | 196.92                   | 98.24                   | 99.11    | 98.46    | $\pm 0.907$    |

## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Antibiyotikler bakteriyel enfeksiyonların önlenmesi ve tedavi edilmesi amacıyla kullanılan ilaçlardır. Antibiyotik direnci, bu ilaçların kullanımına yanıt olarak bakterilerin genetik materyallerinin değişmesi sonucunda ortaya çıkan çok önemli bir küresel sorundur. Antibiyotik direnci halk arasında bilindiği şekliyle insanlar veya hayvanların değil, bakterilerin antibiyotiğe karşı dirençli hale gelmesidir. Dirençli hale gelen bakteriler insanları ve hayvanları enfekte ederek hastalanmalarına yol açtığından, bu şekilde ortaya çıkan enfeksiyonların tedavisi, dirençli olmayan bakterilerin sebep olduğu enfeksiyon hastalıklarının tedavisinden çok daha zor bir hale gelir. Antibiyotik direnci uzun süreli hastanede kalmaya, daha yüksek tıbbi maliyetlerin oluşmasına ve mortalitenin artmasına sebep olur. Antibiyotik direncini azaltmak için tüm dünyada antibiyotik kullanma konusunda bir davranış değişikliğine ihtiyaç duyulmaktadır. Direnç gelişen bakterilere karşı antibiyotikler konusunda davranış değişikliği olmadan yeni antibiyotikler geliştirilse dahi, antibiyotik direnci tüm dünya için çok önemli bir tehdit olmaya devam edecektir. Davranış değişiklikleri ayrıca iyi gıda hijyeni, el yıkama ve aşılama, yoluyla enfeksiyonların yayılmasını azaltmaya yönelik eylemleri de kapsamalıdır. Reçetesiz olarak insanlarda veya hayvanlarda kullanılmak üzere antibiyotik satın alınabiliyorsa, antibiyotik direncinin ortaya çıkışı ve yayılmasının önüne geçilmesi imkansız hale gelebilmektedir. Bununla birlikte, hastalıkların tedavisi ile ilgili standart tedavi kılavuzları olmayan ülkelerde, antibiyotikler doktorlar ve veterinerler tarafından aşırı bir şekilde reçete edilmekte ve halk tarafından yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Bu konu ile ilgili acilen bir eylem planı yapılmaz ise, yaygın enfeksiyonların ve hatta küçük yaralanmaların, insanları öldürülebileceği bir antibiyotik sonrası döneme doğru hızla gidilecektir. Antibiyotik direncinin yayılmasını önlemek ve kontrol etmek multidisipliner bir çalışma gerektirmektedir. Bu sorunu önlemek için, sağlık profesyonellerinin antibiyotikleri sadece gerektiğinde, mevcut tedavi kılavuzlarına göre reçete etmeleri ve karşılaştıkları antibiyotiğe dirençli enfeksiyonları mutlaka sürveyans ekiplerine bildirmeleri, hastalarını antibiyotik direnci, antibiyotikleri nasıl kullanmaları gerektiği ve yanlış antibiyotik kullanımının doğuracağı tehlikeler hakkında bilgilendirmeleri son derece önem arz etmektedir. Bununla beraber sağlık endüstrisinin, yeni antibiyotiklerin keşfi, hastalıkların teşhisi, aşılar ve diğer araçların geliştirilmesi konularında yatırım yapması da sorunun çözümü açısından önemli bir husustur. Antibiyotik direncine yol açan önemli sektörlerden biri de tarım sektörüdür. Tarım

sektöründe antibiyotik direnci kontrol etmek ve yayılmasını önlemek için; Hayvanlara veteriner hekim tarafından uygun görülmedikçe antibiyotik verilmemeli, büyümeyi hızlandırmak yada sağlıklı hayvanlarda sonradan ortaya çıkabilecek hastalıkları önlemek için antibiyotik kullanımının önüne geçilmesi gerekmekte, hayvanlarda antibiyotik kullanımını azaltmak için enfeksiyon hastalıklarına karşı bağışıklık oluşabilmesi için hayvanların zamanında ve düzenli olarak aşılanması gerekmektedir. Bütün bu önlemlerle birlikte biyolojik sıvılarda, dokularda, et, süt ve bal gibi besin maddelerinde antibiyotik kalıntılarının kontrolü son derece önem arz etmektedir. Bu nedenle kalıntı antibiyotik düzeyinin kolayca saptanabileceği, hızlı, duyarlı, ucuz ve basit tayin yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Tez kapsamında, Kinolonlar grubunda yer alan Siprofloksasin ve Glikozitler grubunda yer alan Gentamisin'in tayinine yönelik basit, hızlı, düşük maliyetli voltametrik sensörler geliştirilmiştir.

Söz konusu sensörlerin geliştirilmesinde elektropolimerizasyon yöntemi kullanılarak elektrotlar aşağıda anlatıldığı gibi modifiye edilmiştir.

SİP antibiyotiğini tayin etmek için, 2TM monomeri GCE yüzeyinde CV metodu kullanılarak polimerleştirilmiştir. 2TM literatürde SİP tayini için kullanılmayan ve ilk kez bu çalışmada kullanılan bir monomerdur. 2TM'nin SİP tayinine yönelik seçiciliğini ve duyarlılığını artırmak için monomer konsantrasyonu, kalınlığı ve CV tarama hızı parametreleri çalışma kapsamında optimize edilerek SİP tayini için en uygun hale getirilmiştir. Modifiye edilen  $p(2TM)/GCE$  ile SİP'in elektrokimyasal davranışı SWSV metodu ile incelenmiştir. Bu kapsamda da SİP için en uygun destek elektrolit türü ve pH'sı belirlendikten sonra, biriktirme potansiyeli, sıyırma potansiyeli, biriktirme süresi ve puls genliği parametreleri optimize edilerek literatürde yer almayan yeni bir yöntem geliştirilmiştir. Yöntemin validasyonu için kalibrasyon grafiği çizilip tekrar üretilebilirliği ve gerçek örneklerde uygulanabilirliği denenmiştir. Lineer aralık 0.1-200  $\mu M$  aralığındadır. Bu aralıkta eğim farkından dolayı 2 farklı kalibrasyon grafiği çizilmiştir. Bunlardan birincisi 0.1-3  $\mu M$  konsantrasyon aralığını kapsamakta olup doğrusal bir yapıdadır ve korelasyon katsayısı 0.9993'dür. İkinci kalibrasyon eğrisi de 10-200  $\mu M$  konsantrasyon aralığında olup doğrusaldır ve korelasyon katsayısı da 0.9989'dır. Kalibrasyon grafiğinin standart sapması ve eğimi kullanılarak hesaplanan LOD, 7 nM LOQ ise 22 nM'dir. Geliştirilen elektrotun tekrar üretilebilirliğini test etmek açısından optimum şartlarda 10 defa yeniden modifiye edilen elektrotun 3  $\mu M$  SİP'e karşı verdiği elektrokimyasal davranışı incelenmiştir. Bu inceleme sonucunda, standart sapma 0.17 ve % bağıl standart sapma 0.40 olarak hesaplanmıştır. Bu değerler göz önüne alındığında,

yöntemin tekrarlanabilir, son derece kararlı ve duyarlı (% 99,60) olduğu görülmektedir. Geliştirilen yöntemin gerçek örnek uygulaması, sentetik idrarda SİP tayini standart ekleme metodu ile test edilmiştir. Bunun sonucunda 10  $\mu\text{M}$  ilave için % 99.72-% 99.88, 20  $\mu\text{M}$  ilave için % 99.25-% 99.65 ve 40  $\mu\text{M}$  ilave için % 95.55-% 96.46 oranlarında geri kazanım verimi elde edilmiştir. *p*(2TM)/GCE'nin sentetik idrar çözeltisinde SİP'i çok iyi kararlılık ve duyarlılıkla tayin ettiği görülmüştür. Geliştirilen yöntemin literatürde yer alan bazı çalışmalarla karşılaştırılması çizelge 5.1' de verilmiştir.

**Çizelge 5-1:** SİP için geliştirilen yöntemin literatür karşılaştırılması.

| Yöntem                               | Modifikasyon                                  | Lineer Aralık           | LOD                 | R <sup>2</sup> | Referans   |
|--------------------------------------|-----------------------------------------------|-------------------------|---------------------|----------------|------------|
| DPV                                  | CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -MWCNT/GCE   | 0.1-30 $\mu\text{M}$    | 0.036 $\mu\text{M}$ | 0.9837         | [24]       |
| DPV                                  | PEI @Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> @CNTs/GCE | 0.03-70 $\mu\text{M}$   | 0.003 $\mu\text{M}$ | 0.9981         | [25]       |
| SWV                                  | BDD                                           | 0.15-2.11 $\mu\text{M}$ | 0.05 $\mu\text{M}$  | 0.9974         | [26]       |
| Fluorescence probe                   | MPA-CdS QDs                                   | 0.13-150 $\mu\text{M}$  | 0.04 $\mu\text{M}$  | 0.9914         | [27]       |
| MIP bazlı mikromekanik konsol sensör |                                               | 1.5-150.9 $\mu\text{M}$ | 0.8 $\mu\text{M}$   | 0.9993         | [29]       |
| FIA-AMP                              | MWCNT-SPE                                     | 5-200 $\mu\text{M}$     | 0.06 $\mu\text{M}$  |                | [30]       |
| BIA-AMP                              | MWCNT-SPE                                     | 5-150 $\mu\text{M}$     | 0.07 $\mu\text{M}$  |                |            |
| ASV                                  | Cd(II)/Graphene-modified GCE                  | 0.1-10 $\mu\text{M}$    | 0.59 $\mu\text{M}$  |                | [31]       |
| SWSV                                 | <i>p</i> (2TM)/GCE                            | 0.1-200 $\mu\text{M}$   | 0.007 $\mu\text{M}$ |                | Bu çalışma |

GNS antibiyotiğini tayin etmek için, iki farklı yöntem geliştirilmiştir.

Bunlardan birincisinde 3TCA ve 3MTF monomerleri ko polimer olarak GCE yüzeyinde CV metodu kullanılarak polimerleştirilmiştir. *p*(3TCA ko 3MTF) polimeri literatürde birlikte ve GNS tayini için kullanılmayan, ilk kez bu çalışmada kullanılan bir polimerdir. *p*(3TCA ko 3MTF) nin GNS tayinine yönelik seçiciliğini ve duyarlılığını artırmak için monomer oranı, monomer konsantrasyonu, kalınlığı ve CV tarama hızı parametreleri çalışma kapsamında optimize edilerek GNS tayini için en uygun hale getirilmiştir. Modifiye edilen *p*(3TCA ko 3MTF)/GCE ile GNS'nin elektrokimyasal davranışı SWSV metodu ile incelenmiştir. Bu kapsamda da GNS için en uygun destek elektrolit türü ve pH'sı belirlendikten sonra, biriktirme potansiyeli, sıyırma potansiyeli, biriktirme süresi ve puls genliği parametreleri optimize edilerek literatürde yer almayan yeni bir yöntem geliştirilmiştir. Yöntemin validasyonu için kalibrasyon grafiği çizilip tekrar üretilebilirliği ve gerçek örneklerde uygulanabilirliği test edilmiştir. Lineer aralık 0.05-4.00 mM aralığındadır. Bu aralık için çizilen kalibrasyon grafiği doğrusal bir yapıdadır

ve korelasyon katsayısı 0.9999 dır. Kalibrasyon grafiğinin standart sapması ve eğimi kullanılarak hesaplanan LOD, 0.039 mM, LOQ ise 0.129 mM'dır. Geliştirilen elektrotun tekrarüretilebilirliğini test etmek açısından optimum şartlarda 15 defa yeniden modifiye edilen elektrotun, 1.2 mM GNS'ye karşı verdiği elektrokimyasal davranışı incelenmiştir. Bu inceleme sonucunda, standart sapma 0.48 ve % bağıl standart sapma 1.31 olarak hesaplanmıştır. Bu değerler göz önüne alındığında, yöntemin tekrarlanabilir, son derece kararlı ve duyarlı (% 98.69) olduğu görülmektedir. Geliştirilen yöntemin gerçek örnek uygulaması, sentetik idrarda standart ekleme metodu ile test edilmiştir. Bunun sonucunda 100 µM ilave için % 97.35-% 98.66, 200 µM ilave için % 99.59-% 100.42 oranlarında geri kazanım verimi elde edilmiştir. *p*(3TCA ko 3MTF)/GCE' nin sentetik idrar çözeltisinde GNS'yi çok iyi kararlılık ve duyarlılıkla tayin ettiği görülmüştür.

GNS tayini için geliştirilen ikinci yöntem de ise  $\beta$ CD ve pTSA monomerleri GCE yüzeyinde CV metodu kullanılarak polimerleştirilmiştir. Bu çalışmada oluşan film içinde kalan pTSA dopant etki yaparak filmin iletkenliğinde artışa ve film yapısında elektron transferini güçlendirici bir etkiye yol açmıştır. pTSA dop edilmiş *p*( $\beta$ CD) polimeri literatürde birlikte ve GNS tayini için kullanılmayan, ilk kez bu çalışmada kullanılan bir polimerdir. pTSA dop edilmiş *p*( $\beta$ CD)/GCE' nin GNS tayinine yönelik seçiciliğini ve duyarlılığını artırmak için monomer oranı, monomer konsantrasyonu, polimerleşme ortamının pH'sı, kalınlığı ve CV tarama hızı parametreleri çalışma kapsamında optimize edilerek GNS tayini için en uygun hale getirilmiştir. Modifiye edilen pTSA dop edilmiş *p*( $\beta$ CD)/GCE ile GNS'nin elektrokimyasal davranışı SWSV metodu ile incelenmiştir. Bu kapsamda da GNS için en uygun destek elektrolit türü ve pH'sı belirlendikten sonra, biriktirme potansiyeli, sıyırma potansiyeli, biriktirme süresi ve puls genliği parametreleri optimize edilerek literatürde yer almayan yeni bir yöntem geliştirilmiştir. Yöntemin validasyonu için kalibrasyon grafiği çizilip tekrar üretilirliği ve gerçek örneklerde uygulanabilirliği test edilmiştir. Lineer aralık 0.06-3.50 mM aralığındadır. Bu aralık için çizilen kalibrasyon grafiği doğrusal bir yapıdadır ve korelasyon katsayısı 0.9998 dir. Kalibrasyon grafiğinin standart sapma ve eğimi kullanılarak hesaplanan LOD, 0.048 mM, LOQ ise 0.160 mM'dır. Geliştirilen elektrotun tekrarüretilebilirliğini test etmek açısından optimum şartlarda 15 defa modifiye edilen elektrotun 1.0 mM GNS'ye karşı verdiği elektrokimyasal davranışı incelenmiştir. Bu inceleme sonucunda, standart sapma 0.37 ve % bağıl standart sapma 1.15 olarak hesaplanmıştır. Bu değerler göz önüne alındığında, yöntemin tekrarlanabilir, son derece kararlı ve duyarlı (% 98.85) olduğu görülmektedir. Geliştirilen yöntemin gerçek örnek uygulaması sentetik idrarda standart ekleme metodu

ile test edilmiştir. Bunun sonucunda 100 µM ilave için % 97.16-% 98.74, 200 µM ilave için % 98.24-% 99.11 oranlarında geri kazanım verimi elde edilmiştir pTSA dop edilmiş *p*(βCD)/GCE'nin sentetik idrar çözeltisinde GNS'i çok iyi kararlılık ve duyarlılıkla tayin ettiği görülmüştür. Geliştirilen her iki yöntemin literatürde yer alan bazı çalışmalarla karşılaştırılması çizelge 5.2'de verilmiştir.

**Çizelge 5-2:** GNS için geliştirilen yöntemlerin literatür karşılaştırılması.

| Yöntem                    | Modifikasyon             | Lineer Aralık   | LOD         | R <sup>2</sup> | Referans   |
|---------------------------|--------------------------|-----------------|-------------|----------------|------------|
| Potansiyometrik titrasyon | MWNTs-PVC/SPE            | 0.0001-10 mM    | 0.00075 mM  |                | [37]       |
| batch-injection           | kanamycin-MIP            |                 | 0.027 mM    |                | [38]       |
| amperometri               |                          |                 | 0.000003 mM |                | [39]       |
| HPLC/Tandem MS            |                          |                 | 0.000003 mM |                | [41]       |
| İmmünokimyasal            |                          |                 |             |                |            |
| DPV                       | BDD                      | 1.34-33.58 mM   | 1.15 mM     | 0.9802         | [42]       |
| SWSV                      | <i>p</i> (3TCA 3MTF)/GCE | ko 0.05-4.00 mM | 0.039 mM    | 0.9999         | Bu çalışma |
| SWSV                      | <i>p</i> (βCD) pTSA/GCE  | + 0.06-3.50 mM  | 0.048 mM    | 0.9998         | Bu çalışma |

“Türk Gıda Kodeksi Hayvansal Gıdalarda Bulunabilecek Farmakolojik Aktif Maddelerin Sınıflandırılması ve Maksimum Kalıntı Limitleri” Yönetmeliğinde yer alan MKL’ler incelendiğinde, kalıntı limitinin hayvanın cinsine ve dokuya göre değişmekle birlikte SİP için, 100-300 µg/Kg ( $3 \times 10^{-4}$ - $9 \times 10^{-4}$  mM); GNS için ise 50-750 µg/Kg (0.034-0.504 mM) olduğu görülmüştür. Bu antibiyotiklerden SİP normalde insan sağlığı için kullanılan bir antibiyotik olup direk olarak hayvanlarda kullanılmamaktadır. Buna rağmen hayvanlarda kullanılan Enrofloksasin birçok türde kendisinden daha etkili aktif metaboliti olan SİP’ e dönüşür. Bu yüzden hayvansal dokularda SİP bulunabilir. SİP için geliştirilen yöntemin hayvansal dokulardaki 100-300 µg/Kg aralığındaki MKL’yi tayin edecek özellikte olduğu; GNS için geliştirilen yöntemlerin ise hayvansal dokularda bulunan 50-750 µg/Kg MKL’yi büyük bir oranda tayin edebilecek özellikte olduğu görülmektedir.

Sonuç olarak tez çalışması kapsamında literatürde yer almayan 3 yeni voltametrik yöntem geliştirilerek literatüre katkı sağlanmıştır.

Geliştirilen yöntemlerde optimize edilen parametreler çizelge 5.3’ de verilmiştir.

**Çizelge 5-3:** Geliştirilen yöntemlere ait optimum parametreler.

| Analit                              | <i>p</i> (2TM)/GCE<br>SİP | <i>p</i> (3TCA ko 3MTF)/GCE<br>GNS | <i>p</i> TSA dop edilmiş<br><i>p</i> (βCD)/GCE<br>GNS |
|-------------------------------------|---------------------------|------------------------------------|-------------------------------------------------------|
| Elektropolimerizasyon parametreleri |                           |                                    |                                                       |
| Yöntem                              | CV                        | CV                                 | CV                                                    |
| Monomer                             | 2TM                       | 3TCA ve 3MTF                       | βCD ve <i>p</i> TSA                                   |
| Monomer oranı                       | -----                     | 1.00-1.50                          | 1.00:3.00                                             |
| Monomer derişimi (mM)               | 10                        | 2.50:3.75                          | 0.75:2.25                                             |
| CV tarama hızı (mV/s)               | 100                       | 100                                | 80                                                    |
| Kalınlık (döngü)                    | 2                         | 4                                  | 4                                                     |
| Polimerleşme pH                     | -----                     | -----                              | 7.00 (FT)                                             |
| Analiz parametreleri                |                           |                                    |                                                       |
| Destek elektrolit                   | SiT                       | SiT                                | SiT                                                   |
| Destek elektrolit pH                | 5.00                      | 2.00                               | 2.00                                                  |
| Yöntem                              | SWV-SWSW                  | SWV-SWSV                           | SWV-SWSW                                              |
| Biriktirme potansiyeli (V)          | 0.8                       | 0.5                                | 0.3                                                   |
| Sıyırma potansiyeli (V)             | 0.5                       | 0.6                                | 0.6                                                   |
| Biriktirme süresi (s)               | 15                        | 30                                 | 20                                                    |
| Puls genliği (mV)                   | 55                        | 25                                 | 25                                                    |
| Lineer aralık                       | 0.1-200 µM                | 0.05-4.00 mM                       | 0.06-3.50 mM                                          |
| LOD                                 | 7 nM                      | 0.039 mM                           | 0.048 mM                                              |
| LOQ                                 | 22 nM                     | 0.129 mM                           | 0.160 mM                                              |
| R <sup>2</sup>                      | 0.9993                    | 0.9999                             | 0.9998                                                |
| % RSD                               | 0.40                      | 1.31                               | 1.15                                                  |
| Kararlılık                          | 99.60                     | 98.69                              | 98.85                                                 |
| Geri kazanım verimi                 | 95.55-99.88               | 97.35-100.42                       | 97.16-99.11                                           |



## KAYNAKLAR

- [1] **Etebu, E., & Arikekpar, I.** (2016). Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives. *Int. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. Res*, 90-101.
- [2] **Wang, J., Macneil, J. D., & Kay, J. F.** (2012). *Chemical Analysis of Antibiotic Residues in Food*. Hoboken, New Jersey: A John Wiley & Sons, Inc., Publication.
- [3] **Akkan, G.** (1997). *Antibiyotiklerin Sınıflandırılmaları*. İstanbul: Pratikte Antibiyotik Kullanımı Simpozyumu.
- [4] **Ullah, H., & Saqib, A.** (2017). *Classification of Anti-Bacterial Agents and Their Functions*. Ranjith N. Kumavath, IntechOpen, DOI: 10.5772/intechopen.68695.
- [5] **Kayaalp, S. O.** (2018). *Akılclı Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji 1*. Ankara: Pelikan Kitabevi.
- [6] **Kohanski, M. A., Dwyer, D. J., & Collins, J. J.** (2010). How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. *National institutes of health*, 8(6), 423-435.
- [7] **Shahbaz, K.** (2017). Cephalosporins: pharmacology and chemistry. *Pharmaceutical and Biological Evaluations*, 234-238.
- [8] **Zuckerman, J. M., Bono, B. R., & Qamar, F.** (2011). Review of Macrolides (Azithromycin, Clarithromycin,. *Med Clin N Am*, 761-791.
- [9] **Tariq, S., Rizvi, S. F., & Anwar, U.** (2018). Tetracycline: Classification, Structure Activity Relationship and Mechanism of Action as a Theranostic Agent for Infectious Lesions-A Mini Review. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, 5787-5796.
- [10] **Tačić, A., Nikolić, V., Nikolić, L., & Savić, I.** (2017). Antimicrobial Sulfonamide Drugs. *Advanced technologies*, 58-71.
- [11] **Kang, H. K., & Park, Y.** (2015). Glycopeptide Antibiotics: Structure and Mechanisms of Action. *Journal of Bacteriology and Virology*, 67-78.
- [12] **Shinabarger, D.** (1999). Mechanism of action of the oxazolidinone antibacterial agents. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 1195-1202.
- [13] **Kocsis, B., Domokos, J., & Szabo, D.** (2016). Chemical structure and pharmacokinetics of novel quinolone agents represented by avarofloxacin,

delafloxacin, finafloxacin, zabofloxacin and nemonoxacin. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 15-34.

- [14] **Musa, A., Garba, M., Yakasai, I. A., Odunola, M., & Olayinka, B. O.** (2012). Effects Of Cadmium, Chromium, Manganese and Zinc On The in-Vitro Antimicrobial Activity of Ciprofloxacin. *Nig. Journ. Pharm. Sci*, 58-66.
- [15] **Leblebicioğlu, H.** (2002). Yeni Kinolonlarda Mikrobiyolojik ve Klinik Etkinlik. *ANKEM (Antibiyotik ve Kemoterapi Derneği) Dergisi*, 226-231.
- [16] **Şenol, E.** (2002). Siprofloksasin. *ANKEM (Antibiyotik ve Kemoterapi Derneği) Dergisi*, 382-384.
- [17] **Davies, J.** (2007). In the Beginning There Was Streptomycin. D. P. Arya içinde, *Aminoglycoside antibiotics* (s. 1-14). Hoboken, New Jersey: A John Wiley.
- [18] **Becker, B., & Cooper, M. A.** (2013). Aminoglycoside Antibiotics in the 21st Century. *American Chemical Society*, 105-115.
- [19] **Abt, B., Hartmann, A., Pasquarelli, A., Strehle, S., Mizaikoff, B., & Kranz, C.** (2016). Electrochemical Determination of Sulphur-containing Pharmaceuticals Using Boron-doped Diamond Electrodes. *Electroanalysis*, 1641-1646.
- [20] **Khaled, E., Khalil, M. M., & Abed el Aziz, G. M.** (2017). Calixarene / carbon nanotubes based screen printed sensors for potentiometric determination of gentamicin sulphate in pharmaceutical preparations and spiked surface water samples. *Sensors and Actuators B*(244), 876-884.
- [21] **WHO.** (2020.02.25). *Antibiotic resistance*. World Health Organization: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance> adresinden alındı
- [22] **Yarsan, E.** (2013). *Veteriner Hekimlikte Antibiyotikler*. Ankara: Güneş Tıp Kitapevleri.
- [23] **Yıbar, A., & Soyutemiz, E.** (2013). Gıda Değeri Olan Hayvanlarda Antibiyotik Kullanımı ve Muhtemel Kalıntı Riski. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.*, 97-104.
- [24] **Hosseini, A., Sohouli, E., Gholami, M., Sobhani, N. A., & Mirhosseini, S. A.** (2019). Electrochemical Determination of Ciprofloxacin Using Glassy Carbon Electrode Modified with CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>-MWCNT. *Analytical & Bioanalytical Electrochemistry*, 996-1008.
- [25] **Jalal, N. R., Madrakian, T., Abbas, A., & Ghamsari, M.** (2019). Polyethylenimine@Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@carbon nanotubes nanocomposite as a modifier in glassy carbon electrode for sensitive determination of ciprofloxacin in biological samples. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 281-289.

- [26] Radicova, M., Behul, M., Marton, M., Vojs, M., Bodor, R., Redhammer, R., & Stanova, A. V. (2017). Heavily Boron Doped Diamond Electrodes for Ultra Sensitive Determination of Ciprofloxacin in Human Urine. *Electroanalysis*, 1612-1617.
- [27] Madrakian, T., Maleki, S., & Afkhami, A. (2017). Surface decoration of cadmium-sulfide quantum dots with 3-mercaptopropionic acid as a fluorescence probe for determination of ciprofloxacin in real samples. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 14-21.
- [28] Abdel-Haleem, F. M., Rizk, M. S., & Badr, I. H. (2017). Potentiometric Determination of Ciprofloxacin in Physiological Fluids Using Carbon Paste and Nano-Composite Carbon Paste Electrodes. *Electroanalysis*, 1172-1179.
- [29] Okan, M., Sari, E., & Duman, M. (2017). Molecularly imprinted polymer based micromechanical cantilever sensor system for the selective determination of ciprofloxacin. *Biosensors & Bioelectronics*, 258-264.
- [30] Stefano, J. S., Cordeiro, D. S., Marra, M. C., Richter, E. M., & Munoz, R. A. (2016). Batch-injection versus Flow-injection Analysis Using Screen-printed Electrodes: Determination of Ciprofloxacin in Pharmaceutical Formulations. *Electroanalysis*, 350-357.
- [31] Shan, J., Liu, Y., Li, R., Wu, C., Zhu, L., & Zhang, J. (2015). Indirect electrochemical determination of ciprofloxacin by anodic stripping voltammetry of Cd(II) on graphene-modified electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 123-129.
- [32] Montes, R. H., Marra, M. C., Rodrigues, M. M., Richter, E. M., & Munoz, R. A. (2014). Fast Determination of Ciprofloxacin by Batch Injection Analysis with Amperometric Detection and Capillary Electrophoresis with Capacitively Coupled Contactless Conductivity Detection. *Electroanalysis*, 432-438.
- [33] Torriero, A. A., Salinas, E., Raba, J., & Silber, J. J. (2006). Sensitive determination of ciprofloxacin and norfloxacin in biological fluids using an enzymatic rotating biosensor. *Biosensors and Bioelectronics*, 109-115.
- [34] Obaydo, R. H., & Sakur, A. A. (2019). Fingerprint Spectrophotometric Methods for the Determination of Co-Formulated Otic Solution of Ciprofloxacin and Fluocinolone Acetonide in Their Challengeable Ratio. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 1-14.
- [35] Sagirli, O., Demirci, S., & Önal, A. (2016). Determination of Ciprofloxacin in Human Serum by Online Heart-Cutting Liquid Chromatography. *Chromatographia*, 137-144.

- [36] Vellaa, J., Busuttil, F., Bartolo, N. S., Sammut, C., Ferrito, V., Serracino-Inglott, A., . . . LaFerla, G. (2015). A simple HPLC–UV method for the determination of ciprofloxacin in human plasma. *Journal of Chromatography B*, 80-85.
- [37] Khaled, E., Khalilb, M. M., & Abed el Aziz, G. M. (2017). Calixarene/carbon nanotubes based screen printed sensors for potentiometric determination of gentamicin sulphate in pharmaceutical preparations and spiked surface water samples. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 876-884.
- [38] Almeida, J. M., Toloza, C. A., Machado, B. S., Silva, A. R., & Aucelio, R. Q. (2019). Determination of gentamicin sulfate by batch-injection amperometry after solid-phase extraction using a kanamycin-template imprinted polymer. *Microchemical Journal*(145), 187-195.
- [39] Zhang, C., Hu, J., Sun, F., Jia, M., Chen, G., Wu, C., & Zheng, L. (2018). Determination of four main components of gentamicin in animal tissues after solid-phase extraction by high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 32, 1766-1772.
- [40] Rodriquez, M., Cretoso, D. S., Euterpio, M. A., Russo, P., Crescenzi, C., & Aquino, R. P. (2015). Fast determination of underivatized gentamicin C components and impurities by LC-MS using a porous graphitic carbon stationary phase. *Anal Bioanal Chem*(407), 7691-7701.
- [41] Beloglazova, N. V., Shmelin, P. S., & Eremin, S. A. (2016). Sensitive immunochemical approaches for quantitative (FPIA) and qualitative (lateral flow tests) determination of gentamicin in milk. *Talanta*(149), 217-224.
- [42] Abt, B., Hartmann, A., Pasquarelli, A., Strehle, S., Mizaikoff, B., & Kranz, C. (2016). Electrochemical Determination of Sulphur-containing Pharmaceuticals Using Boron-doped Diamond Electrodes. *Electroanalysis*, 28, 1641-1646.
- [43] Scholz, F. (2015). Voltammetric techniques of analysis: the essentials. *ChemTexts*, 1-17.
- [44] Wang, J. (2006). *Analytical Electrochemistry*. New Jersey: Wiley & Sons, Inc.
- [45] *Pulse Voltammetric Techniques*. (tarih yok). (BASi) 04.12.2020 tarihinde [https://www.basinc.com/manuals/EC\\_epsilon/Techniques/Pulse/pulse](https://www.basinc.com/manuals/EC_epsilon/Techniques/Pulse/pulse) adresinden alındı
- [46] Zoski, C. G. (2007). *Handbook of Electrochemistry*. Netherlands: Elsevier.
- [47] Beşergil , B. (tarih yok). *Prof. Dr. Bilsen Beşergil*. 03.10.2020 tarihinde [http://bilsenbesergil.blogspot.com/p/blog-page\\_708.html](http://bilsenbesergil.blogspot.com/p/blog-page_708.html) adresinden alındı

- [48] **Titretir Duran, S., Ayhan, N., Aksoy, B., Köytepe, S., & Paşahan, A.** (2019). Preparation of triaminotriazine-based polyimide-modified electrodes and their use for selective detection of catechin in green tea samples. *Polymer Bulletin*, 1-18.
- [49] **Burç, M., Köytepe, S., Titretir Duran, S., Ayhan, N., Aksoy, B., & Seçkin, T.** (2020). Development of voltammetric sensor based on polyimide-MWCNT composite membrane for rapid and highly sensitive detection of paracetamol. *Measurement*, 151
- [50] **Güngör, Ö., Özcan, İ., Erdoğan, M., Ateş, B., & Köytepe, S.** (2020). Differential Pulse Voltammetric (DPV) Determination of the Local Anesthetic Bupivacaine using Polyimide Membrane-Based Electrodes. *Analytical Letters*, 53(228-244).
- [51] **Titretir Duran, S.** (2019). Determination of Bisphenol a with Poly (p-Aminobenzoic Acid) Modified Gold Electrode by Using Differential Pulse Voltammetry. *Gazi University Journal Of Science*, 32(426-438).
- [52] **Qin, X., Xiao-Ya, H., & Shi-Rong, H.** (2011). Electrochemical Sensors Based on Electropolymerized Films. *Electropolymerization* (s. 187-198). içinde Rijeka, Croatia: In Tech.
- [53] **Rao, T. N.** (2018). Validation of Analytical Methods. *Calibration and Validation of Analytical Methods - A Sampling of Current Approaches* (s. 131). içinde 141: Intechopen.
- [54] **Veerasamy, R., Sivadasan, S., Karupiah, S., & Rajak, H.** (2010). Validation of Analytical Methods - Strategies & Importance. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2(3), 18-22.
- [55] **AAT Bioquest.** (2019). (AAT Bioquest) 03.25.2020 tarihinde <https://www.aatbio.com/resources/buffer-preparations-and-recipes/> adresinden alındı.
- [56] **Pilehvar, S., Dardenne, F., Blust, R., & Wael, K. D.** (2012). Electrochemical Sensing of Phenicol Antibiotics at Gold. *Int. J. Electrochem. Sci*, 7, 5000-5011.
- [57] **Nikodimos, Y.** (2017). Electrochemical Behaviour of Tinidazole at 1,4-Benzoquinone Modified Carbon Paste Electrode and Its Direct Determination in Pharmaceutical Tablets and Urine by Differential Pulse Voltammetry. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 1-10.
- [58] **Garbellini, G. S., Filho, R. R., & Filho, O. F.** (2015). Voltammetric determination of ciprofloxacin in urine samples and its interaction with dsDNA on a cathodically pretreated boron-doped diamond electrode. *Analytical Methods*, 8, 1-22.

- [59] **Narula, P. M., & Nofle, R. E.** (1999). Investigation of the lifetimes of some pyrrole species by rapid scan cyclic voltammetry and double potential step techniques. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 464(1), 123-127.
- [60] **Baker, C. K., & Reynolds, J. R.** (1988). A quartz microbalance study of the electrosynthesis of polypyrrole. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, 251(2), 307-322.
- [61] **John, R., & Wallace, G. G.** (1991). The use of microelectrodes to probe the electropolymerization mechanism of heterocyclic conducting polymers. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, 306(1), 157-167.
- [62] **Sadki, S., Schottland, P., Brodie, N., & Sabouraud, G.** (2000). The mechanisms of pyrrole electropolymerization. *Chemical Society Reviews*(5), 283-293.
- [63] **Skotheim, T. A., & Reynolds, J. R.** (2007). Handbook of Conducting Polymers 3rd Edition. *RC Press, Boca Raton*.
- [64] **Inzelt, G.** (2008). *Conducting Polymers*. Heidelberg: Springer.
- [65] **Heinze, J.** (1990). *Electronically conducting polymers*. Topics in Current Chemistry.
- [66] **Sharma, P. S., Pietrzyk-Le, A., D'Souza, F., & Kutner, W.** (2012). Electrochemically synthesized polymers in molecular imprinting for chemical sensing. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 402, 3177-3204.
- [67] **Triantou, D., Soulis, S., Perivoliotis, D., & Charitidis, C.** (2015). Influence of electrochemical copolymerization conditions of 3-methylthiophene and biphenyl on the morphology and nanomechanical properties of the films. *J. APPL. POLYM. SCI.*, 1-11.
- [68] **Pereira, A. C., Oliveira, A. E., & Bettio, G. B.** (2019).  $\beta$ -Cyclodextrin electropolymerization: mechanism, electrochemical behavior, and optimization. *Chemical Papers*, 73, 1795-1804.
- [69] **Qin, Q., Bai, X., & Hua, Z.** (2016). Electropolymerization of a conductive  $\beta$ -cyclodextrin polymer on reduced graphene oxide modified screen-printed electrode for simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 782, 50-58.
- [70] **Hofmann, A. I., Kroon, R., Yu, L., & Müller, C.** (2018). Highly stable doping of a polar polythiophene through co-processing with sulfonic acids and bistriflimide. *The Royal Society of Chemistry*, 1-6.

## ÖZGEÇMİŞ

**Ad-Soyad** : Muammer BURÇ  
**Doğum Tarihi ve Yeri** : 26.03.1969- Pertek  
**E-posta** : muammerburc@gmail.com

### ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 1992, Fırat Üniversitesi, Fen- Edebiyat Fakültesi , Biyoloji Bölümü
- **Yüksek Lisans** : 2016, Gaziantep Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü, Eğitim Yönetimi, Teftişi, Planlaması Ve Ekonomisi (Tezsiz)
- **Yüksek Lisans** : Devam ediyor, İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı

### MESLEKİ DENEYİM:

- 1992 yılından itibaren Milli Eğitim Bakanlığı'nda çalışıyor.

### BİLİMSEL ÇALIŞMALAR

---

#### A. Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

1. **Burç, M., Köytepe, S., Titretir Duran, S., Ayhan, N., Aksoy, B., & Seçkin, T.** (2020). Development of voltammetric sensor based on polyimide-MWCNT composite membrane for rapid and highly sensitive detection of paracetamol. Measurement, 151
2. **Burç, M., Güngör, Ö., & Titretir Duran, S.** (2020). Voltammetric Determination of Curcumin in Spices using Platinum Electrode Electrochemically Modified with Poly(Vanillin-co-Caffeic Acid). Anal. Bioanal. Electrochem., Vol. 12, No. 5, 625-643.

#### B. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler

1. Determination of Dopamine by Using Poly (4-Aminobenzoic Acid) Modified Platinum Electrode. International Science and Research Congress (SR Congress 2018) September 04-06, 2018 Girne, Cyprus. (Sözlü)
2. *Poli*(Anilin-Ko-Kafeik Asit) Modifiye Platin Elektrot Kullanılarak Kurkumin Tayini. II. Uluslararası Battalgazi Multidisipliner Çalışmalar Kongresi 15-17 Mart 2019 Malatya. (Sözlü)
3. Development of Voltammetric Sensor Based on Polyimide-MWCNT Composite Membrane For Rapid And Highly Sensitive Detection of Paracetamol. International Multidisciplinary Symposium on Drug Research & Development (DRD 2019), July 01-03, 2019, Malatya-Turkey. (Sözlü)

4. Preparation of Molecularly Imprinted Electrochemical Sensor for L-Phenylalanine Detection. International Multidisciplinary Symposium on Drug Research & Development (DRD 2019), July 01-03, 2019, Malatya-Turkey. (Poster)
5. Voltammetric Determination of Diclofenac Sodium by using Poly(beta-Cyclodextrin-co-2,4,6-Trimethylaniline) Modified Platinum Electrode. III. International Joint Science Congress of Materials and Polymers. 12-14 September 2019-Pristina / KOSOVO. (Sözlü)

#### **GÖREV ALINAN PROJELER**

---

1. 142764-4006 Tübitak Bilim Fuarları Destekleme Programı-Atatürk Mesleki Ve Teknik Anadolu Lisesi Bilim Fuarı. Yürütücü. (Tamamlandı)
2. 294225-4006 Tübitak Bilim Fuarları Destekleme Programı-Atatürk Mesleki Ve Teknik Anadolu Lisesi Bilim Fuarı. Yürütücü. (Tamamlandı)
3. FYL-2018-1504 Siproflaksasin ve Gentamisin Antibiyotikleri için Seçici Elektrotların Geliştirilmesi. Araştırmacı.
4. FHD-2019-1805 Kurkumin İçin Elektropolimerizasyonla Sensör Geliştirme. Araştırmacı. (Tamamlandı)
5. FBA-2019-1626 Penisilin G Antibiyotiğinin Tayinine Yönelik Voltametrik Sensör Geliştirilmesi. Araştırmacı. (Tamamlandı)
6. FHD-2020-2008 Farmasötik Preparatlarda Metoprololün Voltametrik Tayini. Araştırmacı.
7. FBA-2020-1995 Farmasötik Preparatlarda Steroidal Olmayan Antienflamatuar Diklofenak Sodyumun Voltametrik Tayini. Araştırmacı.